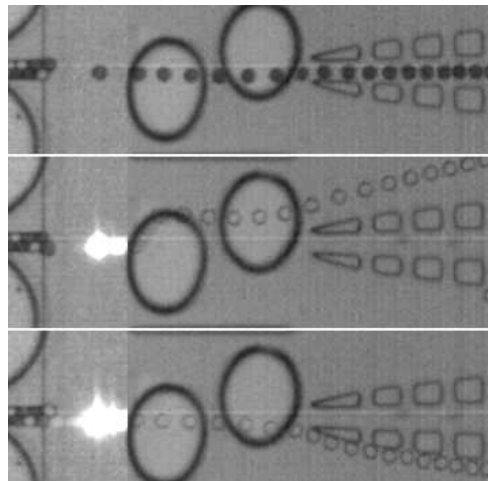


SAW-Aktuation in mikrofluidischen Kanälen zum Pumpen, Sortieren und Herstellen von Mikroemulsionen



Dissertation

zur Erlangung des akademischen Grades
Dr. rer. nat.

eingereicht an der Mathematisch-Naturwissenschaftlich-Technischen
Fakultät der Universität Augsburg

von
Lothar Schmid

Augsburg, April 2017

Erster Gutachter:
Zweiter Gutachter:

Prof. Dr. Thomas Franke
Prof. Dr. Malte Peter

Tag der mündlichen Prüfung:

20. Juli 2017

Abstract

Die Mikrofluidik hat in den letzten zwanzig Jahren zahlreiche Anwendungsmöglichkeiten erschlossen, so beispielsweise die Synthese von Nanopartikeln oder High Throughput Screening von biologischen Proben wie Zellen oder DNA. Für viele dieser Anwendungen ist es wichtig, die Probenflüssigkeiten in Mikrokanälen schnell und gezielt manipulieren und pumpen zu können.

In dieser Arbeit zeige ich die vielfältigen Anwendungsmöglichkeiten von akustischen Oberflächenwellen (SAW) als Aktuationsmechanismus in der Mikrofluidik.

Akustische Oberflächenwellen werden mit Hilfe von piezoelektrischen Transducern erzeugt und erlauben eine elektrische Ansteuerung. Werden sie in einem mikrofluidischen Kanal eingekoppelt, erzeugen sie eine lokal begrenzte Kraft auf die Flüssigkeit und ermöglichen so die gezielte und schnelle Steuerung von mikrofluidischen Strömungen. Ich entwickle drei Anwendungen für diese Technik:

Zunächst stelle ich eine mikrofluidische Flusskammer vor, die eine Probenflüssigkeit entlang eines geschlossenen Kreislaufs pumpt. Auf diese Weise lässt sich ein Probenvolumen von nur 30 μl mit einer Geschwindigkeit von bis zu 5 mm/s pumpen, bei einem Pumpendruck bis zu 4,8 Pa. Die Flussrate lässt sich mit einer Einschwingzeit von nur 15,5 ms ein- bzw. abschalten, und ermöglicht auch die Realisierung pulsierender Flüsse. Die Methode eignet sich außerdem zur Aktuation von Suspensionen biologischen Materials, wie anhand einer Blutprobe demonstriert wird.

Eine weitere im Rahmen dieser Arbeit entwickelte Anwendung ist ein fluoreszenzgesteuerter mikrofluidischer Sortierer für Zellsuspensionen und Mikroemulsionstropfen. Zunächst wird im Vergleich von Flussfeldmessungen und Finite-Elemente-Simulationen der Wirkmechanismus des Sortierers aufgezeigt. Daraufhin wird die Verwendung des Sortierers für einzelne biologische Zellen sowie Mikroemulsionstropfen demonstriert, bei Sortierraten von bis zu 3000 Tropfen pro Sekunde.

Schließlich wird gezeigt, dass sich akustische Oberflächenwellen auch eignen, um die Tropfengrößen von Mikroemulsionen zu modulieren. Ich entwickle einen SAW-gesteuerten Tropfengenerator, der nicht nur eine schnelle Anpassung der Tropfengröße, sondern auch eine Echtzeit-Steuerung des Abschnürens von Tropfen, sowie die Herstellung von binären Mikroemulsionstropfen ermöglicht.

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung: Akustofluidik für die Aktuation in Lab-on-a-Chip-Systemen	3
2	Grundlagen der SAW-Fluidik	7
2.1	Mikrofluidik	7
2.1.1	Grundgleichungen der Fluidik	7
2.1.2	Reynoldszahl	8
2.1.3	Relaxationszeit von Strömungen	9
2.1.4	Kapillarzahl	10
2.1.5	Stokeszahl	11
2.2	Akustische Oberflächenwellen als Antrieb von fluidischen Strömungen	11
2.2.1	Akustische Oberflächenwellen	11
2.2.2	Kopplung von Akustischen Oberflächenwellen in Flüssigkeiten	14
2.2.3	Schallausbreitung in Fluiden	15
2.2.4	Schalltransmission an der Grenzfläche zweier Medien	15
2.2.5	Aktuation von Flüssigkeiten durch Eckart-Streaming	16
2.2.6	Dämpfung von Schallwellen in Flüssigkeiten	17
2.3	Zusammenfassung	18
3	SAW-getriebene Mikrokanäle	21
3.1	Einleitung	21
3.1.1	Herkömmliche Mikropumpen	21
3.1.2	Eckart-Streaming zur Aktuation in Mikrofluidischen Systemen	24
3.2	Versuchsaufbau	24
3.2.1	PDMS-Kanäle	24
3.2.2	SAW-Einkopplung	24
3.2.3	Flussvisualisierung	25
3.3	Ergebnisse	28
3.3.1	Flussprofil und Flussfeld im Kanal	28
3.3.2	Flussfeld an der SAW-Einkopplung	28
3.3.3	Pumpleistung	28
3.3.4	Relaxationszeit bei Flussänderung	31
3.3.5	Pumpen biologischer Proben	33

3.4	Diskussion	33
3.4.1	Betrachtung der Leistungsübertragung	33
3.4.2	Reaktionszeit der Mikropumpe	36
3.4.3	Biokompatibilität	36
3.5	Zusammenfassung	37
4	SAW-getriebene Sortierung	39
4.1	Einleitung	39
4.2	Versuchsaufbau	41
4.2.1	Oberflächenwellenchip	41
4.2.2	Fluidikkanäle	41
4.2.3	Optischer Aufbau	42
4.2.4	Steuerungseinheit	42
4.2.5	Sortierte Proben	45
4.3	SAW-getriebenes Flussfeld im Sortierkanal	46
4.3.1	Experimentelle Beobachtung	46
4.3.2	Simulation	48
4.4	SAW-aktuierte Ablenkung eines Flüssigkeitsjets	49
4.4.1	Experimentelle Beobachtung	49
4.4.2	Theoretische Beschreibung und Simulation	50
4.4.3	Diskussion	51
4.5	SAW-getriebene Ablenkung von Zellen	51
4.5.1	Verwendete Zellen	52
4.5.2	Theoretische Beschreibung der Ablenkung	52
4.5.3	Experimentelle Beobachtung und Diskussion	53
4.5.4	Fazit	57
4.6	Fluoreszenzaktivierte SAW-Sortierung von Zellen	57
4.6.1	Sortierparameter	57
4.6.2	Experimentelle Beobachtung und Diskussion	58
4.7	Fluoreszenzaktivierte Sortierung von Tropfenemulsionen	61
4.7.1	Sortierung in 2 Populationen	61
4.7.2	Dreifachsortierer	62
4.8	Zusammenfassung und Ausblick	66
5	SAW-modulierte mikrofluidische Herstellung von Tropfenemulsionen	67
5.1	Einleitung	67
5.2	Theoretische Grundlagen	69
5.3	Direkte SAW-Aktuation im Flow-Focusing-Tropfengenerator	71
5.3.1	Versuchsaufbau	71
5.3.2	Ergebnisse	73
5.3.3	Diskussion	76
5.4	SAW-getriebene Druckpumpe für Mikrokanäle	77
5.4.1	Versuchsaufbau	78

5.4.2	Ergebnisse	80
5.4.3	Diskussion	80
5.5	SAW-Druckgetriebene Modulation eines T-Junction-Tropfengenerators	83
5.5.1	Versuchsaufbau	83
5.5.2	Ergebnisse	83
5.5.3	Diskussion	85
5.6	Echtzeit-Modulation der Tropfengrößen durch SAW-Pulse . . .	85
5.6.1	Versuchsaufbau	86
5.6.2	Stabiles Regime	86
5.6.3	Synchronisierte und Quasiperiodische Regime beim Einschwingvorgang	91
5.7	Zusammenfassung	94
6	Zusammenfassung und Ausblick	95
A	Anhang	99
A.1	Präparation	99
A.1.1	Herstellung der SAW-Transducer	99
A.1.2	Herstellung der Mikrokanäle	100
A.2	Variablennamen	102
A.3	Verwendete Materialparameter	103

1 Einleitung: Akustofluidik für die Aktuation in Lab-on-a-Chip-Systemen

Die digitale Revolution, die in den letzten siebenzig Jahren die Informationsverarbeitung und Informationsübermittlung um viele Größenordnungen beschleunigt hat, erlaubt heute die weitgehend automatisierte Analyse von gewaltigen Datenmengen, und hat große Verbesserungen in vielen Lebensbereichen gebracht. Getrieben wurde diese Entwicklung im Wesentlichen durch die Verfügbarkeit immer leistungsfähigerer elektronischer Schaltkreise, und diese Leistungssteigerungen gehen auf ein einfaches Rezept zurück: Die funktionalen Strukturen wurden immer weiter miniaturisiert und damit die Leistungsdichte immer weiter erhöht.

Die grundlegende Idee hinter dem Lab-on-a-Chip-Ansatz ist die Übertragung dieses Konzepts auf chemische bzw. biochemische Analyse- und Syntheseprozesse. Durch Miniaturisierung lässt sich der Verbrauch von Reagenzien verringern, die Reaktionszeiten durch kürzere Diffusionswege beschleunigen und Prozesse parallelisieren. Durch die geringen Volumina ist es außerdem möglich, auch winzigen Probenmengen zu analysieren, oder beispielsweise Nanopartikel zu synthetisieren. Insbesondere in der Mikrobiologie ermöglicht die Miniaturisierung die Analyse von einzelnen Zellen.[102]

Ein weiterer entscheidender Vorteil ist die Automatisierung, die Lab-on-a-Chip-Systeme leisten. Dadurch lassen sich portable Geräte entwickeln, die chemische Analysen schnell und ohne den logistischen Aufwand eines kompletten Chemielabors durchführen können. Dies ermöglicht in der Medizin kostengünstigere und schnellere Diagnoseverfahren direkt in der Krankenstation oder der Arztpraxis, sogenanntes Point-of-Care-Testing. [102, 76]

Ein Ansatz für die Entwicklung eines Lab-on-a-Chip-Systems ist die sogenannte *Mikrofluidik*. Hier werden winzige Kanäle mit Durchmessern im 10-100 μm -Bereich verwendet, um Flüssigkeitsproben zu verarbeiten. Durch den Einbau von Heiz- und Kühlelementen lässt sich die Temperatur regeln[106], Mischsysteme sorgen für die Durchmischung verschiedener Flüssigkeiten[54], und Sensoren, die auf optischer[107] oder elektrochemischer Basis[28] oder sogar mittels NMR-Spektroskopie[59] arbeiten, ermöglichen die Analyse der Proben.

Eine wichtige Weiterentwicklung ist die Tropfenfluidik, bei der anstatt einer kontinuierlichen Flüssigkeit einzelne Emulsionstropfen als Mikroreaktoren

durch mikrofluidische Kanäle gepumpt werden. Sie erlauben die Untersuchung einzelner Zellen oder Bakterien sowie deren Stoffwechselprodukte. Aufgrund der hohen Durchsätze von mikrofluidischen Systemen erlaubt dies weit höhere Geschwindigkeiten als herkömmliche Laborverfahren.[83]

Dies wird beispielsweise für die *Directed Evolution* genutzt. Dieses Verfahren optimiert Proteine durch die Erzeugung von Zufallsmutationen und deren anschließende Selektion nach vorgegebenen Kriterien. Während bei natürlicher Evolution der natürliche Selektionsdruck, entsprechend Überlebens- und Fortpflanzungsfähigkeit der Organismen in ihrer Umgebung, die Auswahl der „fittesten“ Mutanten sicherstellt, muss bei der Proteinoptimierung im Labor ein entsprechender Selektionsdruck beispielsweise durch Sortierung entsprechend der Optimierungskriterien künstlich erzeugt werden.[8]

Einfache mikrofluidische Systeme verwenden externe Pumpen, um die Flüssigkeit durch den Mikrokanal zu treiben. Um schnelle Prozesse genau steuern zu können, sind diese Systeme jedoch ungeeignet. Insbesondere die Ansteuerzeit von externen Pumpen liegt oft im Minutenbereich[94, 95]. Zur gezielten Steuerung von Strömungen im Mikrokanal werden auch pneumatische Systeme verwendet, bei denen der Mikrokanal durch druckluftgefüllte Steuerkanäle gezielt verformt wird, um Flüssigkeit zu pumpen, oder Ventile oder Verzweigungen anzusteuern[100]. Allerdings benötigt man hierfür externe Pneumatiktransducer, was die Integration in bestehende Systeme aufwändig macht.

Das in dieser Arbeit vorgestellte Pump- und Aktuationssystem arbeitet stattdessen mit Hilfe von akustischen Oberflächenwellen (*Surface Acoustic Waves*, kurz SAW). Diese Wellen werden durch Transducer erzeugt, die sich direkt auf das Substrat der Mikrokanäle aufbringen lassen und sich dadurch deutlich einfacher in bestehende Systeme integrieren lassen. Die Ansteuerung der Transducer erfolgt elektrisch, was ebenfalls eine einfache Integration in externe, in aller Regel elektronische, Steuersysteme ermöglicht.

Es gibt bereits Arbeiten zur Verwendung von akustischen Oberflächenwellen in Fluidiksystemen. Ausführlich werden diese Systeme beispielsweise von Yeo und Friend in einem Review-Artikel beschrieben:[109]

Zum einen werden SAW in offenen Fluidiksystemen eingesetzt, in denen kleine Flüssigkeitsmengen, meist Tropfen mit Volumina von einigen Mikrolitern, auf einer hydrophil-hydrophob strukturierten Substratoberfläche manipuliert werden. Die SAW wird auf dem Substrat angeregt, koppelt in die Flüssigkeit ein und erzeugt dort eine Strömung. Damit können Tropfen entlang Oberflächen fortbewegt[41] und durchmischt[32] werden. Die offene Oberfläche dieser Systeme, gepaart mit dem hohen Oberfläche-Volumen-Verhältnis aufgrund der geringen Flüssigkeitsmenge, führt jedoch zu einer hohen Verdunstung, die die praktische Anwendbarkeit begrenzt.

Unter anderem deshalb werden stattdessen meist geschlossene Kanäle verwendet. Hier werden in erster Linie stehende Wellen eingesetzt, um Partikel in den Knoten und Bäuchen zu sammeln.[105] Werden zwei rechtwinklig zueinander angeordnete stehende Wellen erzeugt, ist auch eine zweidimensionale

Schachbrettstruktur möglich.[104] Durch die Modulierung des Phasenunterschieds zwischen zwei gegenüberliegenden Transducern lässt sich die Position der Knoten der stehenden Welle steuern, wodurch Partikel nicht nur gesammelt, sondern auch transportiert werden können.[60] Die Kraft auf die Partikel entsteht durch die unterschiedliche akustische Impedanz zwischen Partikel und umgebender Flüssigkeit. Da die Kraft von der Größe und Dichte der Partikel abhängt, lassen sich auf diese Weise passive Filter herstellen, die beispielsweise die relativ kleinen Blutplättchen von Roten Blutkörperchen[65] trennen, oder mit mehreren Zellen gefüllte Alginatkapseln nach Zellzahl sortieren[64]. Durch die verwendete SAW-Frequenz lässt sich der Filter auch auf die gewünschte Partikelgröße anpassen.[89, 88]

In dieser Arbeit wird gezeigt, welche Möglichkeiten laufende Oberflächenwellen für die Aktuation von Strömungen in Mikrokanälen eröffnen.

Eine weitere wichtige Anwendung ist die tropfenbasierte Mikrofluidik. Hier werden Mikroemulsionstropfen als Mikroreaktoren für Screening-Anwendungen und Analysen von einzelnen Zellen oder Molekülen eingesetzt, und ersetzen herkömmliche Mikroreaktoren wie beispielsweise Mikrotiterplatten. Die typischen Volumina von Mikroemulsionstropfen liegen im Bereich von 10 Pikolitern, nur ein Millionstel des Volumens von einer Kavität einer Mikrotiterplatte. Dies ermöglicht zum einen massive Einsparungen beim Ressourcenverbrauch, zum anderen beschleunigt das geringe Probenvolumen die Analyse einzelner Moleküle oder Zellen, da die Reaktionsprodukte in geringeren Probenvolumina schneller die zur Detektion nötige Konzentrationsschwelle überschreiten. Ein Anwendungsbeispiel für diese Screening-Methode ist die bereits erwähnte Directed Evolution. Hierzu müssen einzelne Zellen getrennt analysiert und sortiert werden können, was nur mit Hilfe von Mikroemulsionen möglich ist.[40]

In meiner Arbeit entwickle ich effiziente Methoden sowohl zur Verkapselung von Flüssigkeiten in Mikroemulsionen als auch zur schnellen Sortierung von Mikroemulsionstropfen.

Nachdem Kapitel 2 auf die Grundlagen der Mikrofluidik sowie der SAW-Fluidik eingeht und den Stand der Technik bezüglich mikrofluidischer Pumpsysteme vorstellt, wird in den folgenden Kapiteln die Anwendung der SAW auf mikrofluidische Systeme und deren Vorteile anhand von drei konkreten Anwendungen gezeigt:

In Kapitel 3 stelle ich eine mikrofluidische Flusskammer vor, die eine Probenflüssigkeit von nur ca. 30 μl mit Hilfe der SAW entlang eines geschlossenen Kreislaufs pumpen kann. Diese ermöglicht die Untersuchung kleinster Flüssigkeitsproben im hydrodynamischen Fluss. Das Flussprofil, die Leistung sowie die Ansprechzeit des Systems wird charakterisiert und die Vorteile gegenüber anderen Aktuationssystemen werden herausgestellt.

In Kapitel 4 stelle ich ein mikrofluidisches Zytometer vor, in dem mit Hilfe der SAW Partikel automatisiert und mit hohen Raten sortiert werden können. Die Sortierung erfolgt anhand der Fluoreszenzintensität der Probe, und ermöglicht so die einfache Integration bestehender mikrobiologischer Assays.

Durch die Sortierung sowohl von Zellen als auch von Mikrotropfenemulsionen wird die Vielseitigkeit des Systems demonstriert, und die maximale Sortierrate bestimmt.

In Kapitel 5 schließlich zeige ich, dass sich die in Kapitel 3 vorgestellte SAW-getriebene Mikropumpe auch in bestehende mikrofluidische Systeme integrieren lässt, um eine bessere Kontrolle über die Flüssigkeitsströmungen zu erreichen. Mit einer miniaturisierten Pumpe wird der Flüssigkeitsdruck gezielt an bestimmten Stellen eines Mikrokanals moduliert. Die Leistungskurve und Ansprechzeit der Pumpe wird charakterisiert, und die Anwendbarkeit der Pumpe wird anhand eines Mikrokanals zur Herstellung von Mikroemulsionstropfen demonstriert. Während die Tropfengröße in herkömmlichen Systemen gewöhnlich durch die angelegten Flussraten bestimmt wird, ermöglicht die gezielte Druckmodulation durch die SAW eine präzise Kontrolle dieses Prozesses und damit eine Modulation der Tropfengrößen und der Tropfenrate in Echtzeit.

2 Grundlagen der SAW-Fluidik

Hier stelle ich die physikalischen Grundlagen der Fluidodynamik der von mir verwendeten mikrofluidischen Systeme dar, ausgehend von den grundlegenden Navier-Stokes-Gleichungen. Die Charakterisierung der Systeme erfolgt über dimensionslose Zahlen wie Reynolds- Kapillar- und Stokeszahl, sowie die Relaxationszeit. Anschließend beschreibe ich die akustischen Oberflächenwellen im Festkörper und ihre Kopplung an Fluidiksysteme, wo sie sich als ebene Schallwelle fortsetzen. Durch Absorption bewirken sie eine Volumenkraft, die die Flüssigkeit antreibt.

2.1 Mikrofluidik

Die Mikrofluidik beschäftigt sich mit Flüssigkeitsströmungen in Leitungsnetzwerken mit typischen Kanalbreiten im Mikrometerbereich. Die betrachteten Systeme lassen sich hierbei grob in zwei Kategorien einteilen: Zum einen werden in der Natur vorkommende mikrofluidische Systeme untersucht und in Modellsystemen nachgebildet. Ein wichtiges Beispiel stellt hier der Blutfluss in dünnen Kapillaren dar, dessen zugrunde liegende Physik mit Hilfe der Mikrofluidik erforscht wird. Zum anderen werden in der Mikrofluidik Analyse- und Synthesemethoden miniaturisiert und automatisiert, beispielsweise Chromatographie[57] oder PCR[67], oder auch neue Methoden entwickelt. Diese Tendenz zur Miniaturisierung wird immer wieder mit der revolutionären Entwicklung in der Mikroelektronik verglichen[91]. Durch die Miniaturisierung ist sowohl eine vielfache Parallelisierung von Prozessen möglich, als auch die Verarbeitung von winzigen Flüssigkeitsmengen, was zum einen den Verbrauch an Reagenzien und zum anderen die benötigten Probenmengen massiv reduziert. Die damit einhergehende Automatisierung reduziert nicht nur Kosten, sondern macht viele Anwendungen überhaupt erst wirtschaftlich nutzbar.

Die Grundlagen der Mikrofluidik wurden in Review-Artikeln[74, 91] und Büchern[95] beschrieben. Ich orientiere mich im Folgenden an dem Review-Artikel von Todd M. Squires[91].

2.1.1 Grundgleichungen der Fluidik

Die Dynamik von Flüssigkeiten wird durch die Navier-Stokes-Gleichungen beschrieben. Für eine Flüssigkeit mit lokaler Dichte ρ , Druck p , Geschwindigkeit \mathbf{u} sowie Scherviskosität η und Kompressionsviskosität ζ (auch *zweite Viskosität*) lauten diese[51]:

$$\frac{\partial \rho}{\partial t} + \nabla(\rho \mathbf{u}) = 0 \quad (2.1)$$

$$\rho \frac{\partial \mathbf{u}}{\partial t} + \rho(\mathbf{u} \nabla) \mathbf{u} = -\nabla p + \eta \Delta \mathbf{u} + \mathbf{f} + \left(\zeta + \frac{\eta}{3}\right) \nabla(\nabla \cdot \mathbf{u}) \quad (2.2)$$

Die erste Gleichung ist die Kontinuitätsgleichung und folgt aus der Masseerhaltung der Flüssigkeit. Die zweite Gleichung wird Impuls-Gleichung genannt und beschreibt den Impulsfluss in einer Flüssigkeit und folgt aus dem Impulserhaltungssatz.

Je nach dem betrachteten System kann man bestimmte Terme der Gleichungen vernachlässigen. So kann man die Flüssigkeit in den meisten Fällen als inkompressibel betrachten, wodurch sich beide Gleichungen vereinfachen zu

$$\nabla \cdot \mathbf{u} = 0 \quad (2.3)$$

$$\underbrace{\rho \frac{\partial \mathbf{u}}{\partial t}}_1 + \underbrace{\rho(\mathbf{u} \nabla) \mathbf{u}}_2 = - \underbrace{\nabla p}_3 + \underbrace{\eta \Delta \mathbf{u}}_4 + \underbrace{\mathbf{f}}_5 \quad (2.4)$$

Die Terme auf der linken Seite beschreiben die Trägheitskräfte der Flüssigkeit bei zeitabhängiger (1) und advektiver (2) Beschleunigung. Die Terme auf der rechten Seite beschreiben Druck- (3), viskose (4) sowie Volumenkräfte (5) auf die Flüssigkeit.

2.1.2 Reynoldszahl

Eine wichtige Kennzahl für die Beschreibung eines fluidischen Systems ist die *Reynoldszahl*. Sie beschreibt das Verhältnis der advektiven Beschleunigungskräfte, die typischerweise mit $\rho U_0^2/L_0$ skalieren, und den viskosen Kräften, die mit $\eta U_0/L_0^2$ skalieren, wobei U_0 bzw. L_0 die charakteristische Geschwindigkeit bzw. Länge des Systems ist. Daraus ergibt sich die Reynoldszahl

$$Re = \frac{\rho U_0 L_0}{\eta}. \quad (2.5)$$

Setzt man hier typische Größen für mikrofluidische Kanäle (Flussgeschwindigkeit $U_0 = 1$ mm/s, Kanalbreite $L_0 = 100$ µm sowie die Stoffdaten von Wasser ein, so erhält man $Re \approx 0,1$. Bei Reynoldszahlen unterhalb einer kritischen Grenze, die bei etwa $Re_{\text{krit}} < 1000$ liegt, kann der 2. Term der Navier-Stokes-Gleichung vernachlässigt werden; sie vereinfacht sich zur Stokes-Gleichung.

Dies hat große Auswirkungen auf die Physik von mikrofluidischen Systemen. Die meisten Phänomene, die in den aus dem Alltag bekannten Fluidiksystemen

auftreten, sind bei kleiner Reynoldszahl nicht möglich. So ist beispielsweise das Mischen von Milch und Kaffee nur deshalb möglich, weil sich in eine Kaffeetasse bei typischen Rührgeschwindigkeiten aufgrund der hohen Reynoldszahl ($Re \approx 10^4$) turbulente Wirbel ausbilden, die die Grenzflächen zwischen den beiden Flüssigkeiten vielfach falten und dadurch die nötigen Diffusionslängen, die für die komplette Durchmischung notwendig sind, um mehrere Größenordnungen reduzieren. Da bei kleinen Reynoldszahlen unterhalb von Re_{krit} solche Vortizes nicht auftreten, ist das effiziente Mischen in der Mikrofluidik ein großes Problem.

Bei sehr schnellen Flüssen treten allerdings auch in mikrofluidischen Systemen bestimmte Inertialeffekte auf. So wirken in gekrümmten Kanälen aufgrund des Geschwindigkeitsunterschieds zwischen der Strömung am Rand und in der Mitte unterschiedlich starke Zentrifugalkräfte, wodurch sich eine sekundäre Wirbelströmung bildet; in der Mitte des Kanals wird die Flüssigkeit nach Außen gedrückt, während sie am Rand zurück fließt (s. Abb. 2.1). Dies ist der sogenannte *Dean-Fluss*[21].

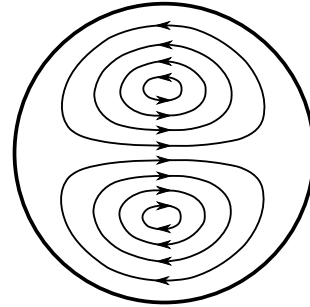


Abbildung 2.1:
Dean-Fluss in einem
gekrümmten Kanal

2.1.3 Relaxationszeit von Strömungen

Auch die zeitabhängige Beschleunigung (Term 1 in Gl. 2.4) wird in den meisten Fällen vernachlässigt, da man meist von stationären Flüssen ausgeht. Zwei wichtige Ausnahmen möchte ich hier vorstellen, da sie auch für meine Arbeit relevant sind:

Hier ist zunächst der Relaxationsvorgang zu nennen, wenn eine Antriebskraft plötzlich eingeschaltet wird und sich eine Flüssigkeitsströmung ausbildet, oder analog beim Abschalten der Antriebskraft die Strömung langsam verebbt. Die Relaxationszeit lässt sich abschätzen, wenn man einen exponentiellen Verlauf annimmt und die zeitabhängige Beschleunigung mit dem viskosen Term gleichsetzt. Damit ergibt sich

$$\tau = \frac{\rho L_0^2}{\eta} \quad (2.6)$$

Diese Relaxationszeit liegt für typische Fluidiksysteme (s. o.) bei $\tau = 10$ ms und ist deshalb bei schnellen Schaltvorgängen wichtig, wie sie beispielsweise beim Sortieren mit hohen Raten vorkommen.

Die zweite Ausnahme, bei der sowohl die zeitabhängige Beschleunigung als auch die Kompressibilität der Flüssigkeit eine wichtige Rolle spielt, ist das sogenannte *Eckard-Streaming*, das durch die Dämpfung von hochfrequenten

und energiereichen Schallwellen verursacht wird. Da dies für meine Arbeit zentral ist, gehe ich darauf weiter unten in Abschnitt 2.2.5 genauer ein.

Aus der oben angegebene Abschätzung für die Relaxationszeit τ lässt sich auch die Dämpfungslänge ς von Schallwellen in Flüssigkeiten bestimmen: Dazu setzt man die charakteristische Länge mit der Wellenlänge gleich und multipliziert die Relaxationszeit mit der Schallgeschwindigkeit c :

$$\varsigma = \frac{\rho c^3}{f^2 \eta} \quad (2.7)$$

Da für diese Abschätzung die Kompressionsviskosität nicht berücksichtigt wurde, stellt sie nur eine grobe Annäherung dar; die tatsächliche Dämpfungslänge liegt um mehr als eine Größenordnung niedriger. Allerdings zeigt bereits diese einfache Abschätzung die korrekte Skalierung der Dämpfungslänge abhängig von der Frequenz $\propto f^{-2}$ und der der Schallgeschwindigkeit c^3 .

2.1.4 Kapillarzahl

Die Navier-Stokes-Gleichungen beschreiben nur die Bewegung homogener Flüssigkeiten mit stationären Grenzflächen. In der Mikrofluidik treten jedoch häufig dynamische Grenzflächen auf, sei es zwischen Flüssigkeit und Gas, wie beispielsweise in Zerstäubern, oder auch zwischen zwei nicht mischbaren Flüssigkeiten, in Emulsionen. In diesen Fällen ist zusätzlich die Grenzflächenspannung σ für die Dynamik des Systems von entscheidender Bedeutung.

Die Grenzflächenspannung führt bei gekrümmten Grenzflächen, wie sie beispielsweise bei Tropfen auftreten, zu einem Druckunterschied zwischen den beiden Fluiden. Dieser ist abhängig von der Gesamtkrümmung der Grenzfläche $c_1 + c_2 = 1/R_1 + 1/R_2$ und wird Laplace-Druck genannt[51]:

$$\Delta p = \sigma \left(\frac{1}{R_1} + \frac{1}{R_2} \right) \quad (2.8)$$

Ob ein fluidisches System vorwiegend von viskosem Druck, der mit $\eta U_0/L_0$ skaliert, oder der Grenzflächenspannungen σ/L_0 dominiert wird, wird durch die *Kapillarzahl* Ca angegeben:

$$Ca = \frac{\eta U_0}{\sigma} \quad (2.9)$$

Bei großer Kapillarzahl zerfällt die Flüssigkeit aufgrund viskoser Kräfte in kleine Tropfen, während bei kleiner Kapillarzahl die Geometrie des Mikrokanals die Form der Flüssigkeit bestimmt.

2.1.5 Stokeszahl

Zur Visualisierung von Strömungen in Mikrokanälen werden in der Regel wenige Mikrometer große Kügelchen als Tracerpartikel in der Flüssigkeit suspendiert. Damit diese Partikel die Strömung korrekt abbilden, muss jedoch die Antwortzeit τ_P , in der sich die Partikelgeschwindigkeit an die Geschwindigkeit der umgebenden Flüssigkeit angleicht, kleiner sein als die charakteristische Zeit des Flussfeldes τ_F , in der sich die Geschwindigkeit eines Flüssigkeitselements ändert. Dies wird durch die Stokes-Zahl Stk angegeben. Die charakteristische Zeit des Partikels τ_P lässt sich aus der Stokes-Reibung ableiten; sie beträgt:[17]

$$\tau_P = \frac{\rho_P d^2}{18\eta} \quad (2.10)$$

mit Teilchendichte ρ_P und -durchmesser d . Die charakteristische Zeit des Flussfeldes lässt sich über die charakteristische Geschwindigkeit U_0 und die charakteristische Längenskala L_F abschätzen zu $\tau_F = L_F/U_0$. Damit ergibt sich die Stokes-Zahl:[17]

$$Stk = \frac{\tau_P}{\tau_F} = \frac{\rho_P d^2 U_0}{18\eta L_F} \quad (2.11)$$

Für $Stk \ll 1$ folgen die Teilchen ohne Abweichungen dem Flüssigkeitsverlauf. Dies ist bei den in meiner Arbeit verwendeten Tracerpartikeln stets der Fall.

2.2 Akustische Oberflächenwellen als Antrieb von fluidischen Strömungen

Da sich die vorliegende Arbeit mit der Verwendung von *Akustischen Oberflächenwellen*, englisch *Surface Acoustic Waves*, kurz *SAW* befasst, gehe ich im folgenden auf die theoretischen Grundlagen der SAW, auf die Einkopplung der Oberflächenwelle in Flüssigkeiten sowie auf das Eckard-Streaming ein, das die Entstehung einer Antriebskraft auf die Flüssigkeit durch die Dämpfung der Schallwelle beschreibt.

2.2.1 Akustische Oberflächenwellen

Akustische Oberflächenwellen wurden zuerst von Lord Rayleigh beschrieben[72]. Sie breiten sich entlang der Oberfläche eines elastischen Festkörpers aus und haben sowohl eine longitudinale als auch eine transversale Schwingungskomponente, die mit zunehmendem Abstand zur Oberfläche exponentiell abnehmen.

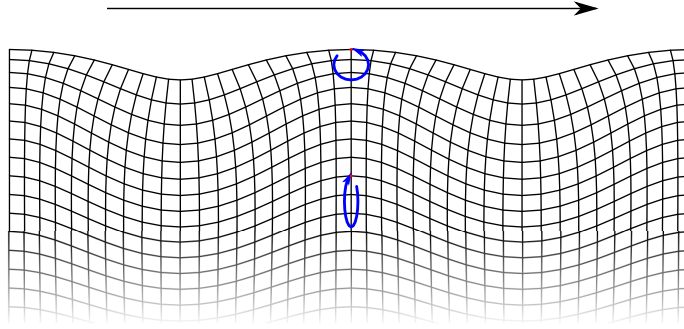


Abbildung 2.2: Eine Rayleighwelle hat sowohl longitudinale wie auch transversale Komponenten und führt deshalb zu einer elliptischen Trajektorie der Volumenelemente, die hier in Blau dargestellt ist. Die Ausbreitungsrichtung der Welle ist von links nach rechts.

Abbildung 2.2 zeigt schematisch die durch eine Rayleighwelle verursachte Deformation und die elliptische Bewegung eines Volumenelements.

Makroskopische Rayleighwellen mit Frequenzen im Bereich von wenigen Hz treten bei Erdbeben auf[39]. Durch Rayleighwellen übertragene Infraschallläute spielen möglicherweise auch eine wichtige Rolle bei der Kommunikation von Elefanten über größere Distanzen[68].

In meiner Arbeit betrachte ich mikroskopische SAWs auf piezoelektrischen LiNbO_3 -Substraten mit Frequenzen im Bereich von $140 \text{ MHz} < f < 170 \text{ MHz}$ und Wellenlängen um $23 \text{ }\mu\text{m} < \lambda < 28 \text{ }\mu\text{m}$ sowie Amplituden im Nanometerbereich.

Die Verwendung piezoelektrischer Substrate erlaubt die einfache elektrische Erzeugung von Oberflächenwellen durch die Strukturierung entsprechender Elektroden sowie auf umgekehrtem Wege die Transformation von Oberflächenwellen in elektrische Signale. Dies wird technisch genutzt, um Verzögerungsleitungen sowie Filter für hochfrequente elektrische Signale zu bauen[63].

Da LiNbO_3 anisotrop ist, lassen sich SAWs nur in bestimmten Kristallrichtungen erzeugen; auch die korrekte Orientierung der Oberfläche muss beachtet werden. In der vorliegenden Arbeit verwende ich LiNbO_3 in der Orientierung 128° rot Y-Cut, sowie als Ausbreitungsrichtung für die SAW die X-Kristallachse. Hier beträgt die Ausbreitungsgeschwindigkeit der SAW auf der freien Oberfläche $c_{\text{SAW}} = 3898 \text{ m/s}$. [90]

Die Anregung der Oberflächenwelle erfolgt mittels eines sogenannten *Interdigitaltransducers*, kurz *IDT*, der aus zwei Elektroden besteht, die wie Finger ineinander greifen. Durch Interferenz der an einzelnen Fingerpaaren erzeug-

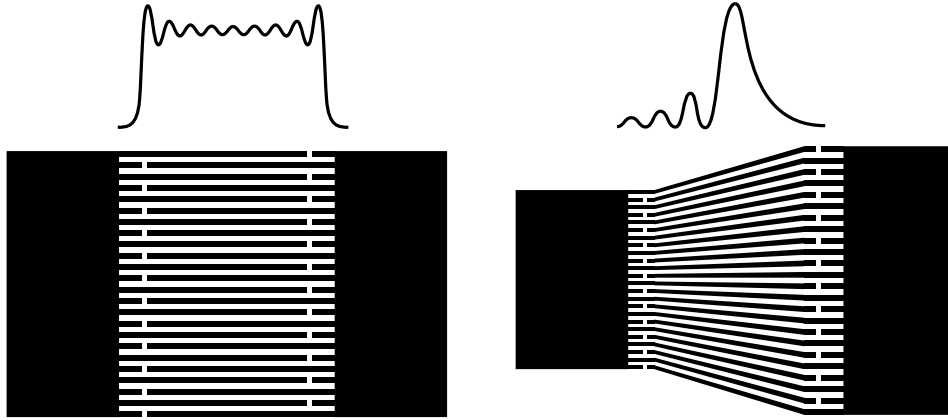


Abbildung 2.3: Skizze der verwendeten IDT-Formen und der resultierenden SAW-Wellenfronten: Ein IDT mit parallelen Fingern (**links**) erzeugt eine ebene Wellenfront, deren Breite der Apertur der Finger entspricht, während ein T-IDT mit gegeneinander geneigten Fingern (**rechts**) aufgrund von Interferenzeffekten eine deutlich schmalere Wellenfront erzeugt.

ten Wellen wirkt der IDT als Frequenzfilter. Die Resonanzbedingung für die Grundfrequenz f_{IDT} lautet

$$f_{\text{IDT}} = \frac{c_{\text{SAW}}}{p} \quad (2.12)$$

mit der Periodizität p des IDT und der Ausbreitungsgeschwindigkeit c_{SAW} der Welle. Es können auch ungeradzahlige höhere Harmonische angeregt werden. IDTs mit parallelen Fingern, wie in Abb. 2.3 links dargestellt, erzeugen eine ebene Wellenfront, deren Breite der Apertur a des IDT entspricht. Ich habe in meiner Arbeit auch sogenannte *tapered IDTs* oder *T-IDTs* verwendet. Diese haben gegeneinander geneigte Elektrodenfinger, wodurch sich entlang der Apertur die Resonanzfrequenz ändert (siehe Abb. 2.3 rechts). Diese IDTs erzeugen eine Wellenfront, die in etwa dem Interferenzbild eines Einfachspaltes im Fernfeld entspricht: Ein breites zentrales Maximum mit mehreren Nebenmaxima. Allerdings treten die Nebenmaxima nur einseitig auf, vermutlich aufgrund der Asymmetrie des IDTs.[70] Der Abstand der beiden ersten Minima B lässt sich mit Hilfe der Fingeranzahl n und der relativen Steigung zweier benachbarter Finger m abschätzen:

$$B = \frac{2\lambda_{\text{SAW}}}{mn} \quad (2.13)$$

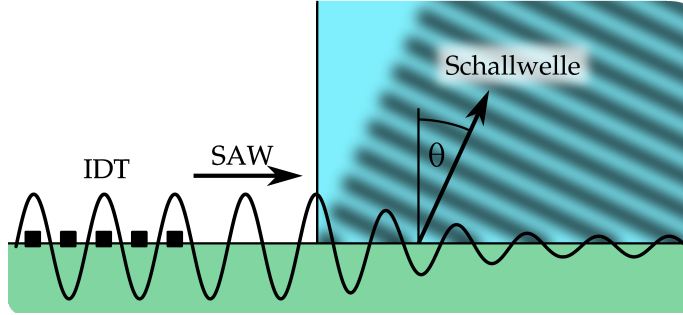


Abbildung 2.4: Kopplung einer leaky SAW als Schallwelle in eine Flüssigkeit

Setzt man die Daten für den in dieser Arbeit verwendeten T-IDT ein (Anhang A.1.1), erhält man einen Abstand $B = 100 \mu\text{m}$.

Über die Anzahl und das Tastverhältnis der Finger lässt sich die Impedanz des IDTs an die der 50Ω -Hochfrequenzleitung anpassen, um Reflexionen am IDT zu verringern und einen möglichst hohen Anteil der elektrischen Leistung in SAW-Leistung umzusetzen.[43]

Die vom Transducer erzeugten Wellen laufen symmetrisch in beide Richtungen weitgehend ungedämpft über die Substratoberfläche. Bringt man jedoch eine Flüssigkeit auf das Substrat auf, kann die SAW als Volumen-Schallwelle in das Medium einkoppeln.

2.2.2 Kopplung von Akustischen Oberflächenwellen in Flüssigkeiten

Befindet sich eine Flüssigkeit im Schallpfad der SAW, so koppelt die transversale Bewegung der SAW als Volumen-Schallwelle in die Flüssigkeit ein. Durch die Energieabgabe an die Volumenwelle wird die Oberflächenwelle als sogenannte *leaky SAW* abgedämpft (s. Abb. 2.4). Viskose Dämpfung aufgrund des longitudinalen Anteils kann hierbei vernachlässigt werden. Der sogenannte Rayleighwinkel θ , unter dem sich die Schallwelle ausbreitet, lässt sich nach dem Snelliusschen Brechungsgesetz aus der Ausbreitungsgeschwindigkeit der SAW c_{SAW} und der Schallgeschwindigkeit in der Flüssigkeit c_f berechnen:

$$\sin \theta = \frac{c_f}{c_{\text{SAW}}} \quad (2.14)$$

Er beträgt beim Einkoppeln in Wasser $\theta = 22,3^\circ$ zur Senkrechten.

Die Dämpfungslänge, nach der die Intensität der SAW auf $1/e$ des Ausgangswertes gefallen ist, lässt sich aus den Dichten ρ_f , ρ_{SAW} , Ausbreitungsgeschwindigkeiten c_f , c_{SAW} sowie der Wellenlänge der SAW λ_{SAW} theoretisch abschätzen[24]:

$$\zeta = \frac{\rho_{\text{SAW}} c_{\text{SAW}}}{\rho_f c_f} \lambda_{\text{SAW}} \quad (2.15)$$

Messungen der Dämpfungslänge bei der Einkopplung einer SAW in Wasser im Frequenzbereich $130 \text{ MHz} < f < 160 \text{ MHz}$ haben gezeigt, dass hier zusätzlich ein Korrekturfaktor von 0,45 berücksichtigt werden muss[31]. Bei einer Frequenz von 160 MHz beträgt die Dämpfungslänge an der Grenzfläche zwischen LiNbO_3 und Wasser damit $\zeta = 0,14 \text{ mm}$.

2.2.3 Schallausbreitung in Fluiden

Eine Schallwelle lässt sich als longitudinale harmonische ebene Welle kleiner Amplitude in einem kompressiblen Fluid beschreiben. An einen festen Ort oszilliert sowohl die Geschwindigkeit des Mediums als auch der lokale Druck. Durch die Druckoszillation kommt es außerdem zu einer adiabatischen Oszillation der Temperatur. Bei hohen Amplituden, bei denen die Druckoszillationen von derselben Größenordnung sind wie der mittlere Druck im Medium, treten nichtlineare Effekte auf, die im folgenden zunächst vernachlässigt werden.

Die Schallgeschwindigkeit beträgt[51]

$$c = \sqrt{\left(\frac{\partial p}{\partial \rho}\right)_s} = \sqrt{\frac{K}{\rho}} \quad (2.16)$$

und hängt somit vom adiabatischen Kompressionsmodul K und der Dichte ρ ab.

Die Energiedichte E einer solchen Schallwelle ist mit der Energiestromdichte bzw. Intensität \mathbf{q} über die Schallgeschwindigkeit c und den Einheitsvektor in Ausbreitungsrichtung \mathbf{n} verknüpft und entspricht außerdem dem Betrag der mittleren Impulsstromdichte $|\bar{\mathbf{\Pi}}|$ [51]:

$$\mathbf{q} = cE\mathbf{n} \quad (2.17)$$

$$|\bar{\mathbf{\Pi}}| = E \quad (2.18)$$

2.2.4 Schalltransmission an der Grenzfläche zweier Medien

Trifft eine Schallwelle unter einem Einfallswinkel θ_1 auf eine Grenzfläche zwischen zwei Medien mit unterschiedlichen akustischen Eigenschaften, so tritt Brechung der transmittierten Welle und eine teilweise Reflexion der Welle auf. Die Kontinuitätsbedingungen für Schallschnelle und Druck liefern die Anschlussbedingungen. Der Ausfallswinkel der transmittierten Welle θ_2 hängt nach dem Snelliusschen Brechungsgesetz von den Schallgeschwindigkeiten der

beiden Medien c_1, c_2 ab, der Reflexionskoeffizient R außerdem von den Dichten ρ_1, ρ_2 [51]:

$$\frac{\sin \theta_1}{\sin \theta_2} = \frac{c_1}{c_2} \quad (2.19)$$

$$R = \left(\frac{\rho_2 \tan \theta_2 - \rho_1 \tan \theta_1}{\rho_2 \tan \theta_2 + \rho_1 \tan \theta_1} \right)^2 \quad (2.20)$$

Für senkrechten Einfall $\theta = 0$ lassen sich diese beiden Formeln zusammenfassen und durch Einführung der Akustischen Impedanz $Z = \rho c$ vereinfachen zu: [51]

$$R = \left(\frac{Z_2 - Z_1}{Z_2 + Z_1} \right)^2 \quad (2.21)$$

2.2.5 Aktuation von Flüssigkeiten durch Eckart-Streaming

Bereits im 19. Jahrhundert wurde beobachtet, dass Schallwellen im Kundtschen Rohr Luftströmungen erzeugen können. Lord Rayleigh lieferte eine theoretische Beschreibung, die die Strömungserzeugung auf den Gradienten der Schallamplitude in der Nähe der Wand zurückführt.[71]

Durch die Entwicklung von hochfrequenten piezoelektrischen Schalltransducern wurde ein ähnliches Phänomen als sogenannter *Quarzwind* wiederentdeckt und von Carl Eckart theoretisch beschrieben. Hier entsteht der Amplitudengradient aufgrund der Dämpfung der Schallwelle im Ausbreitungsmedium. Eckart leitet das Phänomen aus der Bewegung der Flüssigkeitselemente bei der Schallausbreitung mit Hilfe der Navier-Stokes-Gleichungen her.[25]

Da dieser Ansatz recht kompliziert ist, zeige ich im folgenden die theoretische Beschreibung von James Lighthill[55], der stattdessen vom Energie- bzw. Impulserhaltungssatz ausgeht und damit auf elegante Weise zum selben Ergebnis kommt:

Ein Schallstrahl mit begrenzter Querschnittsfläche A transportiert akustische Energie. Die mittlere Energiestromdichte \bar{q} entlang der Ausbreitungsrichtung \mathbf{n} lässt sich aus der Schallleistung P bestimmen. Außerdem transportiert jede Schallwelle einen Impulsstrom $|\bar{\mathbf{\Pi}}|$, dessen Mittel genau der Energiedichte E entspricht:

$$|\bar{\mathbf{\Pi}}| = E = \frac{|\bar{q}|}{c} = \frac{P}{cA} \quad (2.22)$$

Bei ungedämpften Schallwellen bleibt der Impulsstrom erhalten, sodass aufgrund der Impulserhaltung keine Kraft auf das Medium ausgeübt wird. Wird die Schallwelle jedoch durch Dissipation abgedämpft, so nimmt entlang der

Ausbreitungsrichtung auch die Energiedichte bzw. Impulsstromdichte abhängig von der Dämpfungslänge ς ab:

$$E(\mathbf{r}) = |\bar{\mathbf{\Pi}}(\mathbf{r})| = E_0 \exp(-\mathbf{r}\mathbf{n}/\varsigma) \quad (2.23)$$

Aufgrund der Impulserhaltung muss die Welle ihren Impuls an das Medium abgeben. Dies lässt sich durch die Divergenz der Impulsflussdichte beschreiben, die die Dimension einer Volumenkraft hat:

$$\bar{\mathbf{f}} = -\nabla |\bar{\mathbf{\Pi}}(\mathbf{r})| = |\bar{\mathbf{\Pi}}(\mathbf{r})| \mathbf{n}/\varsigma \quad (2.24)$$

Die Streamingkraft $\bar{\mathbf{f}}$ ist damit direkt proportional zur Schallleistung. Integriert man die Volumenkraft entlang der Ausbreitungsrichtung auf, erhält man einen Druckunterschied Δp , der exakt der Änderung der Impulsflussdichte entspricht:

$$\Delta p = \int d\mathbf{s} \cdot \bar{\mathbf{f}} = - \int d\mathbf{s} \cdot \nabla |\bar{\mathbf{\Pi}}(\mathbf{r})| = |\bar{\mathbf{\Pi}}_2| - |\bar{\mathbf{\Pi}}_1| \quad (2.25)$$

Der im Kanal erzeugte Druck hängt also entscheidend von der Dämpfungslänge der Schallwelle in der Flüssigkeit ab.

2.2.6 Dämpfung von Schallwellen in Flüssigkeiten

Für die Dämpfung von Schallwellen in Flüssigkeiten sind drei Dissipationsmechanismen von Bedeutung: Die wichtigsten beiden sind durch die Zähigkeit der Flüssigkeit verursachte innere Reibung sowie thermische Verluste durch Wärmeleitung entlang der von der Schall-Druckwelle durch adiabatische Kompression bzw. Expansion erzeugten Temperaturgradienten im Medium. Außerdem führen Relaxationsphänomene zu zusätzlicher Dämpfung. Die klassische Dissipationskonstante δ_{cl} beschreibt den Dämpfungsterm in der Wellengleichung. Sie hat die Dimension m^2/s und berücksichtigt nur viskose sowie thermische Dämpfung [75]:

$$\delta_{cl} = \frac{1}{2\rho} \left(\frac{4}{3}\eta + \zeta + (\gamma_c - 1)(\kappa/c_p) \right) \quad (2.26)$$

Sie hängt ab von Dichte ρ , Scher- und Kompressionsviskosität η , ζ sowie dem Adiabatenindex γ_c , der Wärmeleitfähigkeit κ und der spezifischen Wärmekapazität c_p .

Für Schallwellen in Wasser und anderen Flüssigkeiten sind die thermischen Verluste gegenüber der Viskosität vernachlässigbar, da die Wärmekapazität

bei konstantem Druck c_p und konstantem Volumen c_v sich nur geringfügig unterscheiden und damit der Adiabatenexponent $\gamma_c \approx 1$ ist. Damit verschwindet der letzte Summand in Gleichung 2.26.

Der klassische Dämpfungskoeffizient α_{cl} beschreibt die Abnahme der Schallamplitude $u(x) = u_0 \exp(-\alpha_{cl}x)$ und hat die Dimension m^{-1} . Er hängt von δ_{cl} , von der Schallgeschwindigkeit c und quadratisch von der Frequenz f der Schallwelle ab.[75]:

$$\alpha_{cl} = \frac{4\pi^2 \delta_{cl} f^2}{c^3} \quad (2.27)$$

Durch Relaxationsphänomene in der Flüssigkeit kann zusätzliche Dissipation auftreten, die jedoch nur relevant ist, wenn die Schallfrequenz von der Größenordnung der Relaxationsrate ist. So treten beispielsweise in Meerwasser ionische Relaxationsphänomene durch reversible Dissoziationsreaktionen von Borsäure ($f \approx 8,3$ kHz) und $MgSO_4$ ($f \approx 1$ MHz) auf[75], spielen aber bei den von mir verwendeten SAW-Frequenzen keine Rolle.

Außerdem gilt $\zeta = 3\eta$. Damit ergibt sich für Wasser bei 20°C ein frequenzabhängiger Attenuationskoeffizient von

$$\frac{\alpha_{H_2O}}{f^2} = 26,0 \cdot 10^{-15} s^2/m \quad (2.28)$$

was bei einer Frequenz von $f = 160$ MHz einer Dämpfungslänge von $\zeta_{H_2O} = 1,50$ mm entspricht. Dies stimmt gut mit Literaturwerten aus experimentellen Messungen im Frequenzbereich von 100-200 MHz überein, die für destilliertes Wasser einen Dämpfungskoeffizienten von $\alpha_{H_2O}/f^2 = (25,0 \pm 1,0) \cdot 10^{-15} s^2/m$ angeben[42]. Für die in einigen Experimenten verwendete Flüssigkeit HFE-7500¹ ergibt sich aufgrund der geringeren Schallgeschwindigkeit ein deutlich höherer Absorptionskoeffizient von $\alpha_{HFE}/f^2 = 215 \cdot 10^{-15} s^2/m$ und eine Dämpfungslänge von $\zeta_{HFE} = 0,181$ mm. Dies lässt entsprechend Gleichung 2.25 eine deutlich höhere Aktuationsleistung bei HFE-7500 im Vergleich zu Wasser erwarten.

2.3 Zusammenfassung

In diesem Kapitel habe ich die theoretischen Grundlagen der Mikrofluidik vorgestellt sowie die wichtigsten Kenngrößen, die die Physik von Flüssigkeiten in mikrofluidischen Kanälen beschreiben, wie Reynolds-, Kapillar- und Stokeszahl sowie die Relaxationszeit bei Flussänderung.

Außerdem bin ich auf Akustische Oberflächenwellen und die verschiedenen Transducer eingegangen, mit denen sie produziert werden können. Ich habe die

¹3M™Novec™7500 Engineered Fluid, 3M Electronics Markets Materials Division, USA

theoretische Beschreibung der Kopplung von Oberflächen- an Volumenwellen sowie die Schallausbreitung in Fluiden und die Transmission an Grenzflächen beschrieben. Schließlich habe ich die Aktuation von Flüssigkeiten durch den Transfer des Impulses einer gedämpften Schallwelle auf die Flüssigkeit beschrieben.

Diese theoretischen Grundlagen dienen in den folgenden Kapiteln zur Beschreibung meiner mikrofluidischen Messungen.

3 SAW-getriebene Mikrokanäle

In diesem Kapitel verwende ich den im vorigen Kapitel vorgestellten Effekt des akustischen Streamings, um Strömung in einem geschlossenen Kanal mit SAW zu erzeugen. Ich beschreibe den Wirkmechanismus und charakterisiere das Strömungsprofil im Kanal sowie die Ansprechzeit und die Effizienz der Mikropumpe. Anschließend zeige ich am Beispiel einer Suspension von roten Blutkörperchen, dass diese Methode das Pumpen biologischer Zellsuspensionen ermöglicht.

Dieses Kapitel basiert auf meiner Veröffentlichung *Novel surface acoustic wave (SAW)-driven closed PDMS flow chamber*[81].

3.1 Einleitung

Eine wichtige Komponente mikrofluidischer Systeme sind Pumpen zur Aktuation von Flüssigkeitsströmungen. Diese Pumpen müssen, je nach Einsatzgebiet, vielfältigen Anforderungen genügen – einfache Ansteuerung, schnelle Ansprechzeiten oder gute Verträglichkeit mit biologischen Proben wie z. B. Zellen. In kommerziellen Systemen eingesetzte Pumpen müssen sich einfach und kostengünstig in großen Stückzahlen produzieren lassen. Deshalb wurden bereits eine Vielzahl an Pumpensystemen entwickelt, die auf verschiedensten physikalischen Phänomenen basieren, wie Elektrophorese und Dielektrophorese, Kapillarkräften, Magnetismus sowie rein mechanische Antriebe.[91, 94] Die wichtigsten möchte ich im Folgenden vorstellen.

3.1.1 Herkömmliche Mikropumpen

Für den Antrieb der Flüssigkeit in Mikrokanälen werden verschiedene Pumpen eingesetzt. Mechanische Spritzenpumpen bestehen aus einer Spritze, deren Kolben durch einen Schrittmotor bewegt wird, um einen konstanten Volumenfluss zu erreichen. Die Flussrate lässt sich hierbei durch die Wahl einer Spritze mit geeigneter Querschnittsfläche und Anpassung der Kolbengeschwindigkeit über einen großen Skalenbereich, von mehreren Litern pro Stunde bis zu wenigen Mikrolitern pro Stunde, variieren. Auch druckgetriebene Systeme werden verwendet, bei denen entweder hydrostatischer Druck durch einen Höhenunterschied zwischen Ein- und Auslassreservoir erzeugt wird, oder ein externes pneumatisches System einen entsprechenden Druckunterschied generiert. Solche externen Pumpen werden mit Schläuchen an den Mikrokanal angeschlossen. Die Strömung in Mikrokanälen ist in der Regel laminar, da die

Reynoldszahl aufgrund der kleinen Kanaldimensionen ($d < 1$ mm) und der geringen Geschwindigkeiten ($u < 100$ mm/s) normalerweise unterkritisch ist ($R < 100$). Deshalb bildet sich in zylindrischen Kanälen ein Poiseuillefluss mit parabolischem Geschwindigkeitsprofil aus. Bei Kanälen mit rechteckigem Querschnitt weicht das Flussprofil vor allem in der Nähe der Wände davon ab; das Geschwindigkeitsprofil beträgt hier [95]

$$u(y, z) = \frac{4G}{\mu w} \sum_{n=1}^{\infty} \frac{(-1)^{n+1}}{\beta_n^3} \left(1 - \frac{\cosh \beta_n z}{\cosh \beta_n b/2} \right) \cos \beta_n y \quad (3.1)$$

wobei β_n definiert ist als

$$\beta_n = (2n - 1) \frac{\pi}{w} \quad (3.2)$$

mit der Kanalbreite w , -höhe h , dynamischen Viskosität der Flüssigkeit η und dem Druckgradienten G .

Diese externen Pumpen haben den Nachteil, dass eine schnelle Änderung der Flussraten nicht möglich ist. Insbesondere bei Spritzenpumpen dauert es durch das hohe Totvolumen in Zuleitungen und die Elastizität sowohl der Flüssigkeit als auch der Zuleitungen typischerweise mehrere Minuten, bis die Flussrate sich nach dem Einschalten der Pumpe stabilisiert hat.[94, 95] Auch lassen sich durch solche Pumpen keine Flusskammern mit zirkulärem Fluss antreiben, wodurch eine Probenflüssigkeit den Mikrokanal nur einmal durchlaufen kann. Da die Flussgeschwindigkeit quadratisch von der Kanalgröße abhängt, sind bei kleinen Mikrokanälen hohe Drücke notwendig, was die Möglichkeit der Miniaturisierung begrenzt.

Eine andere Möglichkeit, Strömung in einem Mikrokanal zu erzeugen, ist die Nutzung des Elektroosmotischen Effekts. In einem Mikrokanal bildet sich in der Grenzfläche zwischen Flüssigkeit und Kanalwand häufig eine Oberflächenladung aus, die durch Ionen in der Flüssigkeit abgeschirmt wird. Diese Ionen bilden eine sogenannte Debye-Grenzschicht mit nicht-neutraler Ladungsdichte mit einer Breite, die der Debye-Hückel-Länge $\lambda_D \approx 1 - 1000$ nm entspricht. Legt man ein elektrisches Feld entlang der Grenzfläche an, so bewirkt dies eine elektrische Kraft auf die Ionen in der Debye-Schicht. Der hieraus resultierende Impulsübertrag wird durch inelastische Stöße auf die anderen Moleküle übertragen und treibt damit die gesamte Flüssigkeit an. Da die Kraft nur auf die dünne Grenzschicht wirkt, bildet sich ein sogenannter *Plug Flow* aus, bei dem die Flussgeschwindigkeit in der Grenzschicht an der Oberfläche stark zunimmt und im restlichen Kanal konstant bleibt. Solche Elektroosmotischen Pumpen erlauben durch die elektrische Steuerung und die Platzierung direkt im Mikrokanal das schnelle Schalten von Flüssen. Da das Flussprofil außerhalb der Debye-Schicht scherfrei ist, ist die Flussgeschwindigkeit im Gegensatz

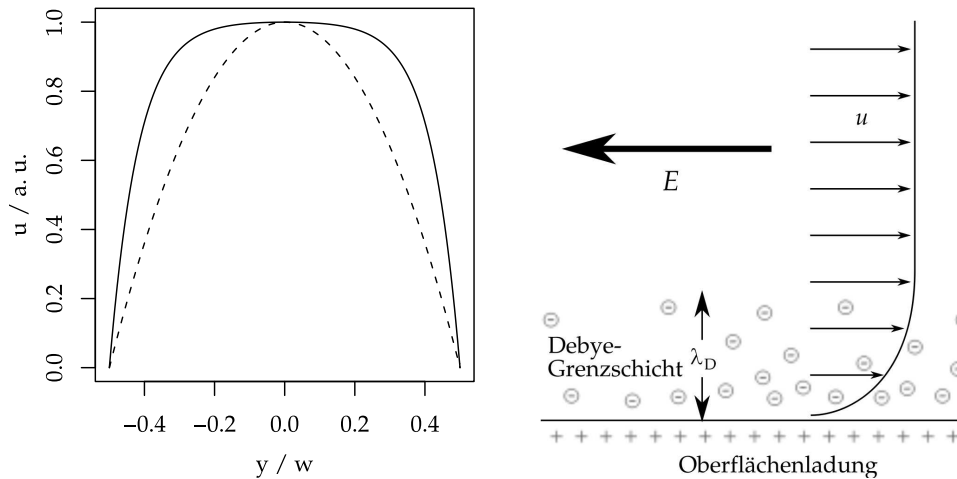


Abbildung 3.1: (links) Poisseuille-Profil eines Zylindrischen Kanals (gestrichelt) und eines Rechteckkanals (durchgezogene Linie) mit Seitenverhältnis 4:1 im Vergleich. Das Flussprofil wurde entlang einer Linie durch die Kanalmitte berechnet, beim Rechteckkanal parallel zur langen Seite. (rechts) Erzeugung eines sog. *Plug Flow* durch Elektroosmose. Die Ionen der durch Oberflächenladung verursachten Debye-Grenzschicht werden durch das angelegte elektrische Feld beschleunigt. Es bildet sich eine Flüssigkeitsströmung mit hoher Scherrate im Bereich der Grenzschicht und konstanter Geschwindigkeit im Inneren des Kanals.

zu druckgetriebenen Kanälen unabhängig vom Kanalquerschnitt. Allerdings hängt die elektroosmotische Antriebskraft entscheidend von den elektrolytischen Eigenschaften der Flüssigkeit und der Oberflächenladung der Kanalwand ab, die wiederum vom pH-Wert der Flüssigkeit abhängt und sehr sensitiv gegenüber Adhäsion von gelösten Stoffen oder transportierten Teilchen ist. Dies ist besonders problematisch bei biologischen Proben wie beispielsweise Zellen, da diese meist in Pufferlösungen suspendiert werden, und hohe Wandaffinität besitzen. Außerdem benötigt man hohe elektrische Felder, die bei Zellen zur Poration der Zellmembran führen können.[91, 53]

In Abb. 3.1 sind typische Flussprofile für druckgetriebene sowie elektroosmotisch getriebene Strömungen dargestellt.

Weitere Mikrofluidik-Pumpen funktionieren als peristaltische Pumpen, die über pneumatisch gesteuerte Antriebskanäle den Fluidikkanal verformen und dadurch die Flüssigkeit vortreiben. Diese Pumpen sind unabhängig von der verwendeten Flüssigkeit und zeichnen sich durch kurze Ansprechzeiten von bis zu 1 ms aus, benötigen jedoch eine externe pneumatische Steuerung.[100]

3.1.2 Eckard-Streaming zur Aktuation in Mikrofluidischen Systemen

Eckard-Streaming mit Hilfe von Akustischen Oberflächenwellen wurde bereits zum Mischen in Flüssigkeitstropfen[32] und in geschlossenen Mikrokanälen[92] verwendet, sowie als Pumpe in einer offenen mikrofluidischen Flusskammer zur Untersuchung von Zellen im Scherfluss[82]. Auch in offenen planaren tropfenbasierten Mikrofluidiksystemen eignet sich SAW-gesteuertes Eckard-Streaming, um Tropfen zu verschieben und zu fusionieren[73, 31, 30], z. B. um PCR-Analysen mit kleinen Probenvolumina durchzuführen[41].

Auch in geschlossenen mikrofluidischen Flusskammern wurde Eckard-Streaming bereits als Pumpe eingesetzt, um Blutgerinnung und die Adhäsion von Krebszellen zu untersuchen[27].

Ich werde im folgenden eine solche SAW-getriebene geschlossene Flusskammer vorstellen und deren Flussprofil, Pumpleistung sowie die Ansprechzeit beim Ändern der Flussgeschwindigkeit charakterisieren und mit theoretischen Modellen vergleichen.

3.2 Versuchsaufbau

3.2.1 PDMS-Kanäle

Die PDMS-Kanäle werden mit gefrästen Aluminium-Gussformen hergestellt und auf ein dünnes Deckglas aufgeklebt. Die rechteckigen Kanäle haben eine Breite von $w = 1$ mm und eine Höhe $h = 0,75$ mm. Um den Einfluss der Kanalgröße auf die Relaxationszeit des Flusses zu ermitteln, werden für die Relaxationsexperimente auch Kanäle mit geringerer Breite $w = 0,5$ mm verwendet. Der Kanal beschreibt eine geschlossene rechteckige Schleife mit einer Länge von $l = 42$ mm, mit einem Flüssigkeitsvolumen von nur 32 μ l. Um zu zeigen, dass der Kanal auch zur Untersuchung biologisch relevanter Vorgänge im Blutfluss geeignet ist, werden außerdem verschiedene Kanalvarianten vermessen, bei denen ein Abschnitt des Kanals mit einer Verengung, einem Zickzack-Profil oder einer Verzweigung versehen ist (in Abb. 3.3 des folgenden Abschnitts dargestellt). An einer Ecke wird ein dünnes Loch in die PDMS-Decke des Kanals gestanzt, durch das er mit Hilfe einer Eppendorff-Pipette mit Flüssigkeit gefüllt werden kann.

3.2.2 SAW-Einkopplung

Zur Erzeugung der Oberflächenwelle wird ein IDT mit einer Apertur $a = 624$ μ m und einer Fingerperiodizität $p = 26$ μ m auf einem 128° rot Y-cut LiNbO₃-Substrat verwendet, der eine Resonanzfrequenz von $f_{\text{IDT}} = 142$ MHz aufweist.

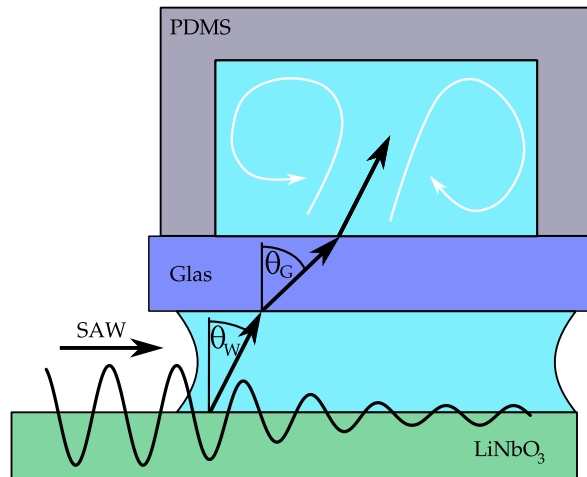


Abbildung 3.2: Seitenansicht der Flusskammer an der Einkoppelstelle. Die Oberflächenwelle koppelt zunächst als Schallwelle in eine dünne Wasserschicht ein, transmittiert dann durch den Glasboden der Flusskammer und tritt schließlich in die Flüssigkeit im Mikrokanal ein. Dort wird der größte Teil der Leistung durch viskose Dämpfung dissipiert, und der Impuls der Schallwelle geht auf die Flüssigkeit über.

Der IDT wird mit dem verstärkten Signal eines Hochfrequenzgenerators¹ angesteuert. Die angelegte Leistung kann stufenlos geregelt werden und beträgt bis zu $P_{\text{el}} = 0,79 \text{ W}$. Außerdem kann die SAW-Leistung pulsmoduliert werden, um die Relaxationszeit der Flusskammer zu messen.

Der Mikrokanal wird auf den IDT-Chip gesetzt, so dass sich der IDT, wie in Abb 3.3 dargestellt, direkt an einer Ecke des Mikrokanals befindet, und an den Seiten mit Silikonpaste fixiert. Ein dünner Spalt zwischen der Chipoberfläche und dem Deckglas auf der Kanalunterseite lässt sich hier nicht vermeiden. Da ein Luftspalt schlechte Kopplungseigenschaften hat, wird eine $150 \text{ }\mu\text{m}$ dicke Wasserschicht aufgebracht. So koppelt die Oberflächenwelle zuerst als Schallwelle in diese Wasserschicht ein, um dann ins Glas und anschließend in die Flüssigkeit im Kanal einzukoppeln (Abb. 3.2).

3.2.3 Flussvisualisierung

Um das Flussfeld der Strömung im Mikrokanal aufzunehmen, wird die Flusskammer auf ein invertiertes Mikroskop montiert und mit einer Hochgeschwindigkeitskamera aufgenommen. Der Mikrokanal wird mit Wasser gefüllt, in dem $1 \text{ }\mu\text{m}$ große Latexkugeln als Tracerpartikel suspendiert sind, wobei deren Stokes-Zahl bei allen gemessenen Geschwindigkeiten $\text{Stk} \lesssim 10^{-6}$ beträgt.

¹Rhode & Schwarz SML01

Diese Partikel können im Phasenkontrastmodus beobachtet werden. Durch die Verwendung eines Objektivs mit geringer Schärfentiefe und eines Fokus mit z-Anzeige kann gezielt auf bestimmte Ebenen des Mikrokanals fokussiert werden. Dies erlaubt die Aufnahme des Flussprofils in verschiedenen Ebenen der Flusskammer.

Um das Flussfeld zu ermitteln, werden die aufgenommenen Videos mit Particle Image Velocimetry (PIV) ausgewertet. Bei dieser Technik werden aufeinander folgende Bilder der Hochgeschwindigkeitskamera in Interrogationsfenster unterteilt. Anschließend wird für jedes Fenster die zweidimensionale Kreuzkorrelation der beiden Aufnahmen in beide Raumrichtungen durchgeführt; das Maximum zeigt dann die mittlere Ortsänderung der Teilchen zwischen den beiden Aufnahmen an.[18] So kann für jedes Fenster ein Geschwindigkeitsvektor bestimmt werden. Durch das Zusammenfassen mehrerer Bildpaare wird die Genauigkeit erhöht. Auch die Visualisierung periodisch veränderlicher Strömungen ist mit PIV möglich, dabei muss allerdings darauf geachtet werden, dass nur Bildpaare gleicher Phasenlage miteinander kombiniert werden. Zur Auswertung benutzte ich das Programm JPIV².

²JPIV Particle Image Velocimetry, Peter Vennemann 2008

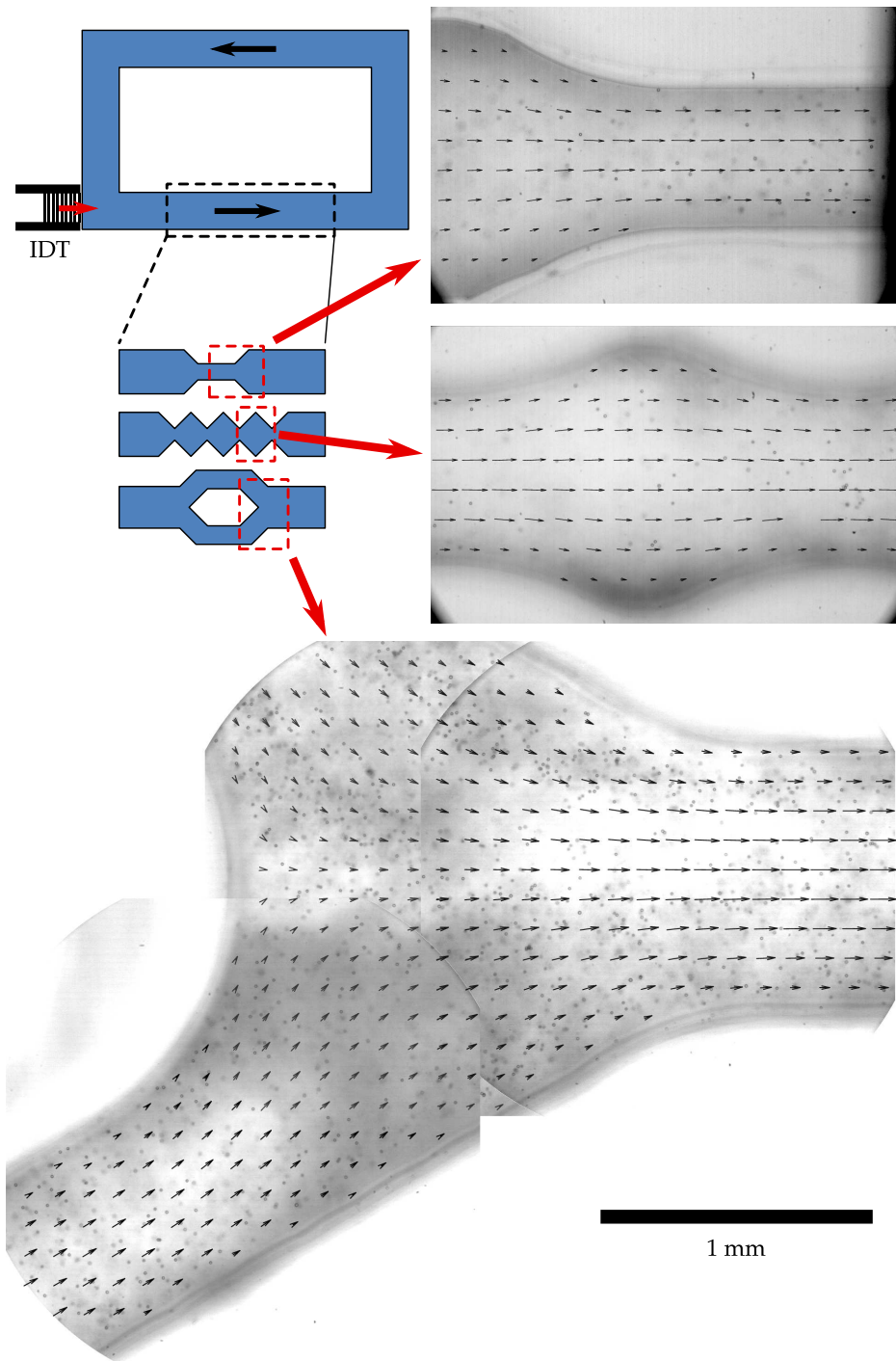


Abbildung 3.3: (links oben) Skizze des Mikrokanals in Draufsicht sowie der verschiedenen untersuchten Kanalverengungen. (rechts & unten) Die Mikroskopbilder zeigen die mittels Tracerpartikeln aufgenommenen Flussprofile an den verschiedenen Verengungen, die aufgrund der kleinen Reynoldszahl völlig laminar sind.

3.3 Ergebnisse

3.3.1 Flussprofil und Flussfeld im Kanal

Zunächst wird das Flussprofil bei einer SAW-Leistung von 200 mW im geraden 1 mm breiten Kanal in zwei verschiedenen Ebenen aufgenommen: Im Abstand von $z = 20 \mu\text{m}$ bzw. $z = 170 \mu\text{m}$ von der Kanalwand. Abbildung 3.4 links zeigt die gemessenen Profile. Ein Fit des theoretischen Modells (Gl. 3.1) mit dem Druckgradienten G als Fitparameter an die Messwerte für $z = 20 \mu\text{m}$ ergibt einen Gradienten von $G = 28,5 \text{ Pa/m}$. Damit lässt sich die Geschwindigkeit für $z = 170 \mu\text{m}$ berechnen; der Plot zeigt eine gute Übereinstimmung mit den Messwerten. Dies zeigt, dass sich der hydrodynamische Fluss im Kanal im stationären Regime als laminarer Stokes-Fluss beschreiben lässt.

Auch für die Verengung, den Zickzack-Kanal und die Verzweigung wird mittels PIV ein Flussfeld in der Kanalmitte aufgenommen (Abb. 3.3). Es zeigt ebenfalls eine laminare wirbelfreie Strömung.

3.3.2 Flussfeld an der SAW-Einkopplung

An der Stelle, an der die Oberflächenwelle in den Kanal einkoppelt, zeigt sich ein deutlich komplizierteres Flussfeld (Abb. 3.5). Zum einen bildet sich ein horizontaler Wirbel; ein Vergleich der in drei verschiedenen Höhen aufgenommenen Flussfelder zeigt, dass auch zwei vertikale Wirbel vorhanden sind.

Bei diesen Wirbeln handelt es sich jedoch nicht um Turbulenzen, wie sie in makroskopischen Rohrleitungen vorkommen. Die Reynoldszahl ist hier selbst bei hohen SAW-Leistungen stets im unterkritischen Bereich. Die Wirbel entstehen vielmehr durch die inhomogen wirkende Volumenkraft, die durch das Eckard-Streaming verursacht wird. Da die Breite der SAW entsprechend der IDT-Apertur $a = 626 \mu\text{m}$ und auch deren Abklinglänge $\zeta = 140 \mu\text{m}$ deutlich kleiner ist als der Kanal, bildet sich ein enger Schallstrahl am Rand des Kanals aus, der nur einen kleinen Bereich der Flüssigkeit beschleunigt. An Stellen, wo die Volumenkraft nicht wirkt, bildet sich wegen der Volumenerhaltung ein Rückfluss aus. Die Beschleunigung verläuft außerdem aufgrund des kleinen Rayleighwinkels $\theta = 22,3^\circ$ schräg nach oben, weshalb sich auch vertikale Wirbel ausbilden.

3.3.3 Pumpleistung

Um die gerichtete Pumpleistung der SAW-Pumpe, die die Flüssigkeit entlang des Kanals antreibt, in Abhängigkeit von der eingekoppelten elektrischen Leistung aufzunehmen, wird anschließend bei verschiedenen Leistungen zwischen $6,3 \text{ mW} < P_{\text{el}} < 0,79 \text{ W}$ das Flussprofil im Kanal aufgenommen und wie oben der Druckgradient G bestimmt. Mit der Kanallänge $l = 42 \text{ mm}$ lässt sich daraus der Druckabfall p über den gesamten Kanal berechnen, der im stationären Regime gleich der Pumpleistung sein muss. Die in Abbildung 3.4 rechts

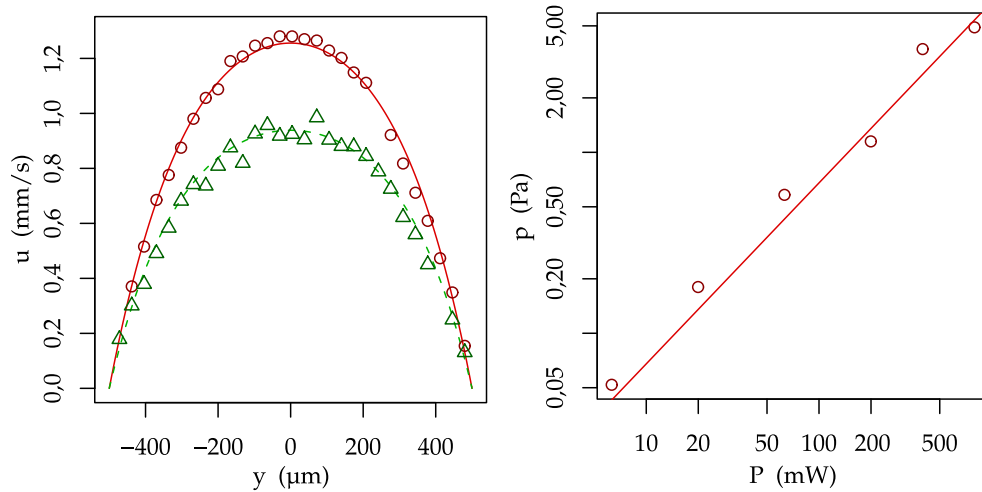


Abbildung 3.4: **(links)** Flussprofil des PDMS-Kanals ohne Verengung bei einer SAW-Leistung von 200 mW, gemessen quer zur Flussrichtung, in zwei verschiedenen z -Höhen. Die roten Kreise zeigen das Flussprofil in $z = 20 \mu\text{m}$ Abstand zur Kanalmitte, die grünen Dreiecke für $z = 170 \mu\text{m}$ das Profil näher an der Kanaldecke. Ein Fit des analytischen Modells für laminare Strömungen (Gleichung 3.1) an die Messwerte für $z = 20 \mu\text{m}$ ergibt einen Druckgradienten $G = 28,5 \text{ Pa/m}$ (rote durchgezogene Linie). Mit diesem Wert lässt sich das Geschwindigkeitsprofil für $z = 170 \mu\text{m}$ berechnen (gestrichelte grüne Linie). Dies stimmt hervorragend mit den Messwerten überein. **(rechts)** Aus den bei verschiedenen SAW-Leistungen gemessenen Geschwindigkeitsprofilen lässt sich eine lineare Relation zwischen SAW-Leistung und effektivem Pumpendruck des SAW-Aktuators ableiten, die Proportionalitätskonstante beträgt $p/P = (6,8 \pm 0,6) \text{ mPa/mW}$. Der maximale Druck bei einer SAW-Leistung von 0,79 W beträgt 4,8 Pa.

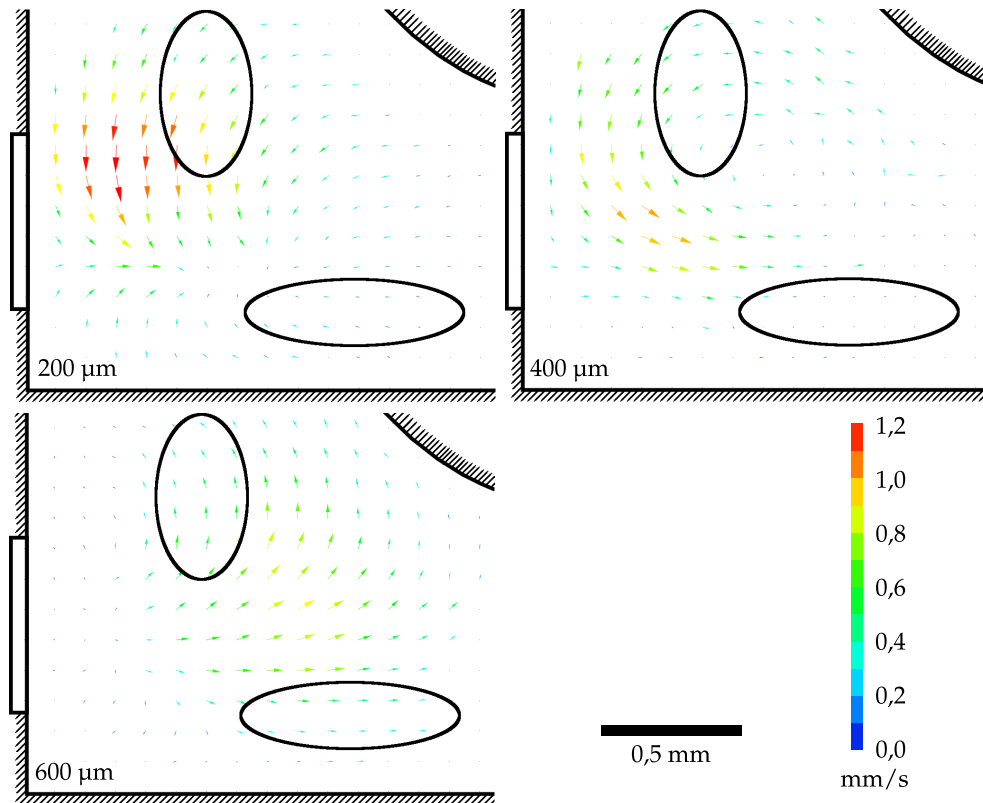


Abbildung 3.5: Darstellung des mittels Particle Image Velocimetry gemessenen Flussfeldes nahe der Einkoppelstelle der SAW im Abstand vom 200 μm , 400 μm und 600 μm vom Boden des Mikrokanals bei einer SAW-Leistung von 16 mW. Das schwarz umrandete Rechteck auf der linken Seite zeigt die Position des IDTs an. Aufgrund der geometrischen Einschränkung und des kleinen Rayleighwinkels wird die Flüssigkeit schräg nach oben beschleunigt. Die Ellipsen deuten zwei gegenläufige Wirbel an, die sich ausbilden. Die gemessenen Flussgeschwindigkeiten der Wirbel sind ca. eine Größenordnung höher als die Geschwindigkeiten im Kanal abseits der Einkoppelstelle.

wiedergegebenen Messwerte zeigen einen linearen Zusammenhang zwischen elektrischer Leistung und Pumpendruck, mit einer Proportionalitätskonstante $p/P_{\text{el}} = (6,78 \pm 0,57)$ mPa/mW und einem maximalen Druck von $p = 4,8$ Pa bei $P_{\text{el}} = 0,79$ W elektrischer Leistung. Dieser Druck erzeugt eine Flussgeschwindigkeit von $u = 4,9$ mm/s in der Kanalmitte und entsprechend Gleichung 3.1 eine Flussrate von $Q = 0,15$ ml/min.

3.3.4 Relaxationszeit bei Flussänderung

Zur Messung der Relaxationszeit der Flusskammer wird die SAW-Leistung pulsmoduliert und die Flussgeschwindigkeit in der Kanalmitte bestimmt. Die Periodendauer beträgt $T = 500$ ms, die Pulslänge $\tau = 250$ ms, bei einer SAW-Leistung $P_{\text{el}} = 20,5$ mW. Um den Einfluss der Kanalgeometrie zu untersuchen, werden zwei verschiedene Kanalbreiten $w = 1$ mm und $w = 0,5$ mm bei gleicher Kanalhöhe $h = 0,75$ mm verwendet. Abbildung 3.6 zeigt die Flussgeschwindigkeit im Zeitverlauf. Wie die logarithmische Auftragung zeigt, lässt sich die Relaxation durch einen exponentiellen Prozess mit der Zeitkonstante τ' darstellen. Durch linearen Fit lassen sich für den breiten bzw. engen Kanal zwei Zeitkonstanten bestimmen: $\tau'_1 = (61,7 \pm 0,4)$ ms und $\tau'_{0,5} = (15,5 \pm 0,5)$ ms.

Diese Relaxationszeit lässt sich nicht durch elektrische oder mechanische Phänomene bei der Erzeugung oder Einkopplung der SAW erklären, da diese zu schnell ablaufen. So beträgt die Anstiegs- bzw. Abfallzeit der Modulation des Hochfrequenzgenerators nur 20 ns[1]. Die Zeit, bis die SAW die maximale Leistung erreicht, entspricht ungefähr der Laufzeit der SAW über den Transducer und beträgt ca. 1 μ s.

Der entscheidende Prozess ist vielmehr die fluidische Relaxation aufgrund der Trägheit der Flüssigkeit, wie in Abschnitt 2.1.3 beschrieben. Die dort angegebene grobe Abschätzung (Gl. 2.6) ergibt, wenn man als charakteristische Länge das geometrische Mittel des halben Kanaldurchmessers einsetzt ($L_0^2 = wh/4$), eine Relaxationszeit von $\tau'_1 = 188$ ms bzw. $\tau'_{0,5} = 94$ ms.

Für eine zylindrische Rohrströmung existiert eine genaue analytische Lösung des Flussprofils. Diese wird durch eine Fourier-Bessel-Reihenentwicklung berechnet, wobei jedes Glied eine eigene Relaxationszeit τ'_n aufweist: [11]

$$u(r, t) = \frac{G}{4\eta} (R^2 - r^2) - \frac{2GR^2}{\eta} \sum_{n=1}^{\infty} \frac{J_0(\lambda_n \frac{r}{R})}{\lambda_n^3 J_1(\lambda_n)} \exp(-t/\tau'_n) \quad (3.3)$$

$$\tau'_n = \frac{R^2 \rho}{\eta \lambda_n^2} \quad (3.4)$$

Hier ist G der Druckgradient, η und ρ die dynamische Viskosität bzw. Dichte der Flüssigkeit, R der Rohrradius und J_n bzw. λ_n die Besselfunktionen bzw. die Nullstellen von $J_0(\lambda) = 0$.

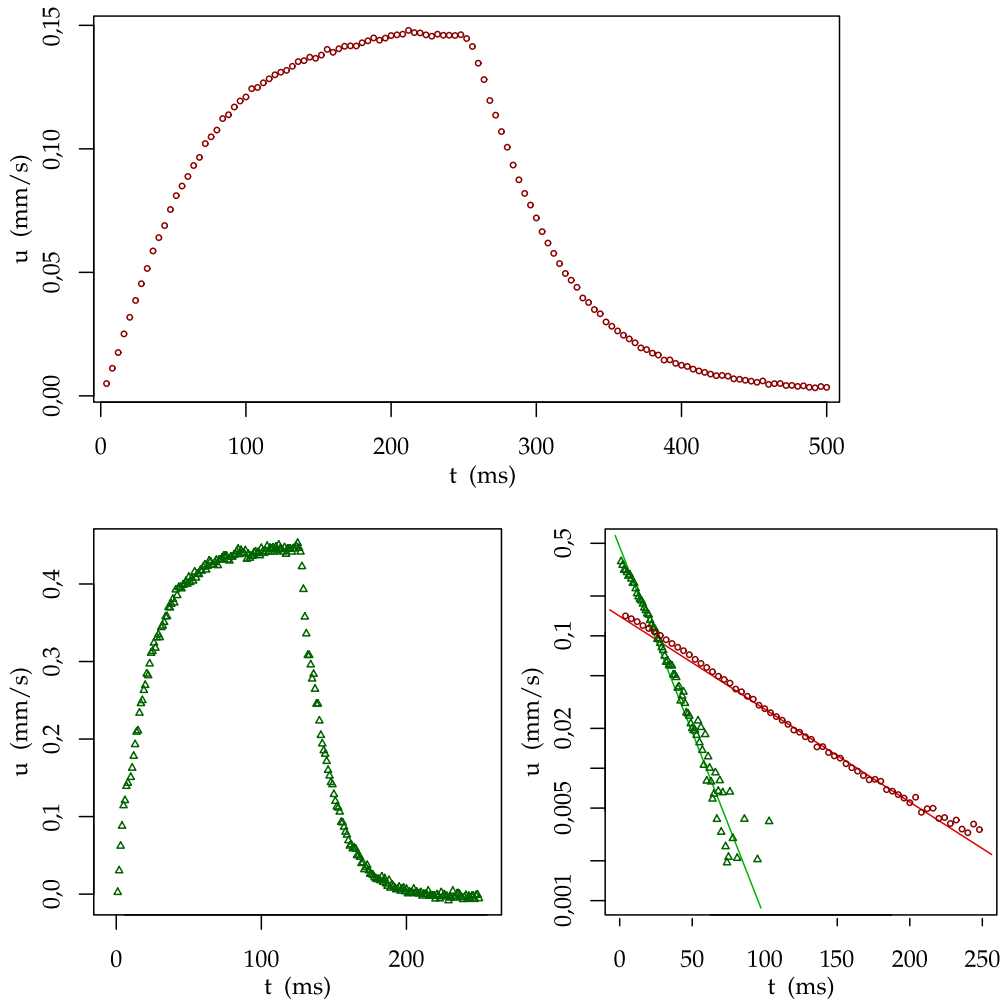


Abbildung 3.6: (oben) Flussgeschwindigkeit in der Mitte des 1 mm breiten Kanals beim Pulsbetrieb des SAW-Transducers. Sowohl beim Ein- als auch beim Ausschaltvorgang erkennt man deutlich einen exponentiellen Geschwindigkeitsverlauf. (unten links) Halbiert man die Kanalbreite auf 0,5 mm, so verringert sich auch die Zeitkonstante. (unten rechts) In exponentieller Auftragung lässt sich durch einen linearen Fit die Zeitkonstante des Abklingvorgangs bestimmen. Diese beträgt $\tau'_1 = (61,7 \pm 0,4)$ ms für den breiten (rote Kreise) und $\tau'_{0,5} = (15,5 \pm 0,5)$ ms für den schmalen Mikrokanal (grüne Dreiecke).

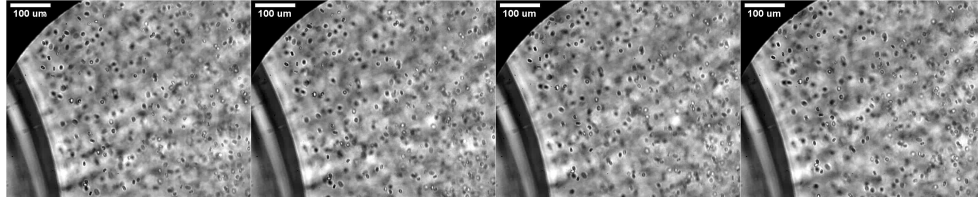


Abbildung 3.7: Rote Blutkörperchen werden durch den Mikrokanal gepumpt. Die Modulation der SAW-Pumpe erzeugt einen gepulsten Fluss, wie er in Arterien vorkommt. Die Bilder wurden mit jeweils 130 ms Abstand aufgenommen.

Das Glied $n = 1$ hat die längste Relaxationszeit. Setzt man den Rohrradius $R^2 = wh/4$, ergibt damit sich als Abschätzung für den rechteckigen Mikrokanal $\tau'_1 = 32,4$ ms bzw. $\tau'_{0,5} = 16,2$ ms, was den tatsächlich gemessenen Werten sehr nahe kommt. Auffällig ist allerdings, dass das Verhältnis der beiden Relaxationszeiten $\tau'_1/\tau'_{0,5}$ im Experiment ca. 4, und den theoretischen Abschätzungen jedoch nur 2 beträgt. Möglicherweise spielt hier auch die Zeit bis zur Ausbildung der Wirbel in der Kopplungsregion der Oberflächenwelle eine Rolle, deren Größe hauptsächlich durch die Apertur und Abklinglänge der SAW und weniger durch die Kanalgeometrie vorgegeben wird. Eine Untersuchung deren Dynamik im Detail ist im Rahmen dieser Arbeit nicht vorgesehen.

3.3.5 Pumpen biologischer Proben

Um zu demonstrieren, dass die Flusskammer sich auch für biologische Proben eignet, wird das Pumpen einer mit PBS verdünnten Suspension von Erythrozyten (roten Blutkörperchen) demonstriert. Die Amplitude der HF-Spannung wurde mit einem Rechtecksignal mit der Frequenz von 1 Hz moduliert. Durch die schnelle Reaktionszeit der Pumpe lässt sich damit der pulsierende Fluss in Arterien simulieren. Da die Mikropumpe ohne Modifikation der Probenkammer auskommt und die verwendeten Probenkammer-Materialien biokompatibel sind, tritt weder Adhäsion der Zellen noch eine zusätzliche mechanische Belastung durch die Pumpe auf. Abbildung 3.7 zeigt die roten Blutkörperchen im Mikrokanal.

3.4 Diskussion

3.4.1 Betrachtung der Leistungsübertragung

Beim Vergleich der aufgewandten elektrischen Leistung $P_{el} = 0,79$ W mit der Pumpleistung der Mikropumpe $P_{pump} = Q\Delta p = 12 \cdot 10^{-9}$ W fällt auf, dass nur ein kleiner Teil der Leistung in den Vortrieb der Flüssigkeit umgesetzt wird. Dies lässt sich zum einen auf Verluste beim Übertragen der Schallwelle

in die Flusskammer erklären, außerdem durch Verluste bei der Umwandlung der Schallwelle in fluidische Vortriebsleistung sowie durch Dissipation in den Vortizes an der Einkoppelstelle.

Übertragung der Schallwelle

Zum einen treten Verluste auf, da die Impedanz des Transducers nicht perfekt an die Impedanz des 50 Ohm-Hochfrequenzkabels angepasst ist. Dadurch wird ein kleiner Teil der elektrischen Leistung reflektiert. Der Transmissionsgrad beträgt hier $T = -0,28$ dB.

Da der Transducer zwei Oberflächenwellen in entgegengesetzte Richtungen emittiert, von denen nur eine in den Mikrokanal einkoppelt, geht nochmals die Hälfte der Leistung verloren, was einem Transmissionsgrad $T = -3,01$ dB entspricht.

Nachdem die SAW als Schallwelle in die Flüssigkeit eingekoppelt ist, treten bei der Transmission durch die dünne Flüssigkeitsschicht unter dem Glas Verluste aufgrund der viskosen Dämpfung entsprechend $T = -0,47$ dB auf.

Anschließend wird die Schallwelle an der Grenzfläche zum Glas erneut gebrochen. Grundsätzlich können hierbei in Glas sowohl longitudinale als auch transversale Wellen angeregt werden; da die Ausbreitungsgeschwindigkeit von Transversalwellen in Glas jedoch mit $c_{\text{trans}} = 5640$ m/s [75] viel höher ist als in Wasser, ergibt sich ein kritischer Einfallswinkel für Totalreflexion von $\theta_{\text{crit}} = 15,4^\circ$. Da die Welle unter einem Rayleighwinkel von $\theta_W = 22,3^\circ$ auftrifft, wird nur eine longitudinale Welle ($\theta_G = 55,4^\circ$) transmittiert. Das Verhältnis der Amplituden von einfallender und transmittierter Welle ψ/ϕ kann aus den Ein- und Ausfallswinkeln, den Materialkonstanten ρ_W und ρ_G sowie den Akustischen Impedanzen für Schallwellen in Wasser Z_W sowie die longitudinalen bzw. transversalen Wellen in Glas Z_l , Z_t (vgl. Gleichung 2.21) berechnet werden: [13]

$$\frac{\psi}{\phi} = \frac{-2\rho_W/\rho_G Z_t \sin^2 2\theta_G}{Z_l \cos^2 2\theta_W + Z_t \sin^2 2\theta_W + Z_W} \quad (3.5)$$

Daraus lässt sich ein Transmissionsgrad an der Grenzfläche von $T = -3,64$ dB bestimmen. Derselbe Transmissionsgrad tritt erneut beim Übergang der Welle ins Wasser an der Oberseite des Glases auf.

Damit ergibt sich ein gesamter Transmissionskoeffizient für die Schallleistung in der Flusskammer von $T_\Sigma = -11,57$ dB und damit für die maximale elektrische Leistung eine effektive Schallleistung von $P_S = 55$ mW. Dieser Transmissionsverlust kann jedoch die niedrige Energieeffizienz nicht alleine erklären.

Um Transmissionsverluste bei der Ankopplung durch mehrere Zwischenschichten zu vermeiden, kann man Mikrokanäle direkt auf das Substrat auf-

setzen, oder durch dünne PDMS-Folien einkoppeln. Entsprechende Kanäle beschreibe ich in den beiden folgenden Kapiteln.

Effizienz des Eckard-Streaming

Durch die Dämpfung der Schallwelle in der Flusskammer wird wie in Gleichung 2.25 beschrieben der Impuls der Welle an die Flüssigkeit abgegeben und dadurch ein Druckgradient entlang der Ausbreitungsrichtung erzeugt.

Die Impulsflussdichte lässt sich gemäß Gleichung 2.22 aus der Leistung P_S und der Querschnittsfläche des Schallstrahls A berechnen. Die Querschnittsfläche $A = a\zeta \cos\theta$ wird über die Apertur a des IDTs, die Abklinglänge der SAW ζ und den Rayleighwinkel θ abgeschätzt. Damit ergibt sich für den verwendeten 140 MHz-IDT eine Volumenkraft von $\bar{f} = 0,24 \cdot 10^6 \text{ N/m}^3$ am Boden der Flusskammer und eine Dämpfung der Schallwelle um 34 % zwischen der Einkoppelstelle am Boden der Flusskammer und der Stelle an der Decke der Flusskammer, an welcher der Schallstrahl ins PDMS einkoppelt. Dies entspricht einem Druckunterschied von $\Delta p = 137 \text{ Pa}$.

Da die Höhe der Flusskammer deutlich geringer ist als die Abklinglänge der Schallwelle, werden nur 34 % des Schallimpulses an die Flüssigkeit abgegeben, was die Pumpleistung entsprechend reduziert. Durch eine Änderung der Frequenz ließe sich die Dämpfungslänge σ verringern und damit die Pumpleistung erhöhen. Da die Schallwelle jedoch bereits in der Kontaktflüssigkeit zwischen IDT und Mikrokanal abgedämpft wird, darf die Dämpfungslänge nicht zu klein gewählt werden. Das Optimum liegt bei $\sigma = 0,45 \text{ mm}$, was einer Frequenz von 290 MHz entspricht. Dann wäre der an die Flüssigkeit abgegebene Schallimpuls etwa doppelt so groß wie in unserem Experiment.

Doch selbst bei optimaler Anpassung und perfekter Transmission lassen sich mit Eckard-Streaming keine effizienten Pumpen bauen. Denn im Gegensatz zu mechanischen Pumpen, bei denen viskose Dissipation unerwünscht ist und prinzipiell durch optimierte Geometrien verringert werden kann, ist sie für Eckard-Streaming zur Dämpfung der Schallwelle zwingend notwendig und führt entsprechend zu einem geringen Wirkungsgrad.

Dissipation durch Vortizes

Wie das gemessene Flussfeld zeigt, bilden sich an der Einkoppelstelle aufgrund des steilen Rayleighwinkels sowie des Größenunterschieds zwischen der geringen Breite der Oberflächenwelle und der breiten Flusskammer Vortizes aus, die zusätzlich viskose Verluste verursachen und für den Unterschied zwischen dem gemessenen Pumpendruck und dem berechneten Druckunterschied entlang des Schallstrahls verantwortlich sind. Auch das Verhältnis der gemessenen maximalen Flussgeschwindigkeiten an der Einkoppelstelle bzw. im Rest des Kanals liegt in einem ähnlichen Bereich.

Durch eine Anpassung der vertikalen Ausrichtung der Schallstrahls ließe sich die Bildung von Vortizes vermindern und dadurch der Effektivdruck der Pumpe erhöhen. Dies lässt sich allerdings nur schwer realisieren, da der Rayleighwinkel von den Schallgeschwindigkeiten der verwendeten Flüssigkeit bzw. dem verwendeten Substrat abhängt und diese nur schwer substituierbar sind. Hier ließe sich allenfalls die Kanalgeometrie entsprechend anpassen, beispielsweise durch einen gegen das Substrat nach oben geneigten Einkoppelkanal, aber ein solcher Kanal ließe sich mit den üblichen photolithographischen Verfahren nur sehr aufwendig herstellen. Alternativ kann man die Kanalhöhe reduzieren, um die Bildung von senkrechten Vortizes zu unterdrücken. Durch eine Anpassung der SAW-Schallpfadbreite an die Breite des Mikrokanals lässt sich außerdem die Bildung von waagrechten Vortizes verhindern. Eine entsprechend optimierte Pumpengeometrie stelle ich in Kapitel 5 vor.

3.4.2 Reaktionszeit der Mikropumpe

Die gemessenen Relaxationszeiten der Flussgeschwindigkeit beim Einschalten der Oberflächenwelle von $\tau_1 = (61,7 \pm 0,4)$ ms bzw. $\tau_{0,5} = (15,5 \pm 0,5)$ ms sind um mehr als drei Größenordnungen kleiner als die typischen Relaxationszeiten bei spritzenpumpengetriebenen Systemen.

Wie in Abschnitt 3.3.4 ausgeführt, sind diese Relaxationszeit im Wesentlichen nicht durch die Reaktionszeit der Pumpe, sondern stattdessen durch die Trägheit der Flüssigkeit im angeschlossenen Mikrokanal limitiert, und hängt deshalb vor allem von den Kanaldimensionen ab.

Da die Relaxationszeit der Flussgeschwindigkeit mit dem Quadrat des Kanaldurchmessers R^2 skaliert (Formel 3.4), lassen sich in dünneren Kanälen noch deutlich schnellere Reaktionszeiten erreichen. Die theoretische Grenze ist hierbei nur die Laufzeit der Oberflächenwelle über den IDT hin zur Einkoppelstelle von ca. 1 μ s.

Deshalb eignen sich SAW-betriebene Mikropumpen vor allem für Anwendungen, bei denen ein schneller Wechsel zwischen verschiedenen Strömungen geschaltet werden muss. In den folgenden Kapiteln stelle ich zwei Lab-on-a-Chip-Anwendungen vor, in denen dieser Geschwindigkeitsvorteil genutzt wird.

3.4.3 Biokompatibilität

Da die Mikropumpe keine besonderen Anforderungen an die aktuierte Flüssigkeit stellt und deshalb auch mit wässrigen Lösungen funktioniert, kann sie insbesondere für biologische Proben eingesetzt werden. Da die Proben außerdem nur mit Schallwellen durchdrungen werden und keinen elektrischen Feldern ausgesetzt sind, lassen sich auch empfindliche Zellen damit problemlos untersuchen, wie die in Abschnitt 3.3.5 Aktuation einer Erythrozytensuspension zeigt. Dies stellt einen deutlichen Vorteil gegenüber elektroosmotischen

Pumpen dar, deren hohe elektrische Felder den Einsatz mit Zellen unmöglich machen[91, 53].

3.5 Zusammenfassung

In diesem Kapitel habe ich eine SAW-getriebene mikrofluidische Flusskammer vorgestellt, ihren Wirkmechanismus charakterisiert sowie die maximal erzeugbaren Flussgeschwindigkeit $u = 4,9$ mm/s, Flussrate $Q = 0,15$ ml/min und den maximalen Druck $p = 4,8$ Pa bestimmt, sowie die Ansprechzeit bei Flussänderung von $\tau'_1 = (61,7 \pm 0,4)$ ms bzw. $\tau'_{0,5} = (15,5 \pm 0,5)$ ms, je nach Kanalgeometrie.

Durch den planaren Aufbau und die elektrische Ansteuerung lässt sich die hier verwendete SAW-Mikropumpe auf einfache Weise in mikrofluidische Systeme integrieren. Durch die hohen erzielbaren Flussraten und die Biokompatibilität des akustischen Antriebs stellt sie eine interessante Alternative zu existierenden Antriebsmethoden wie beispielsweise Elektroosmose dar. Die Ansprechzeit des SAW-Antriebs ist mit 1 μ s so kurz, dass die Beschleunigung der Flüssigkeit nur noch von deren Massenträgheit und damit der Kanalgeometrie bestimmt wird. Dies macht SAW-Aktuation vor allem für Systeme interessant, bei denen schnelle Schaltzeiten gefordert werden, wie beispielsweise bei mikrofluidischen Partikelsortierern. Im folgenden Kapitel stelle ich eine solche Anwendung vor, bei der die SAW-Aktuation in einer entsprechend optimierten Kanalgeometrie ihren Geschwindigkeitsvorteil voll ausspielen kann.

4 Fluoreszenzaktivierte Sortierung von Tropfen und Zellen in einem SAW-getriebenen mikrofluidischen Sortierer

In diesem Hauptteil der Arbeit beschreibe ich den Aufbau eines akustisch getriebenen mikrofluidischen Zell- und Tropfensortierers. Der Aufbau, der auf einem gewöhnlichen Fluoreszenzmikroskop aufsetzt, triggert die Sortierung durch optische Detektion und ermöglicht damit hohe Sortiergeschwindigkeiten. Im Vergleich zwischen Simulation der Fluidik und entsprechenden Messungen des Strömungsprofils charakterisiere ich das Funktionsprinzip des Sortierers. Anschließend zeige ich verschiedene Anwendungen zur Zell- und Tropfensortierung.

Dieses Kapitel basiert auf meinen Veröffentlichungen *Sorting drops and cells with acoustics: Acoustic microfluidic fluorescent activated cell sorter*[80] sowie *Surface acoustic wave actuated cell sorting (SAWACS)*[29]

4.1 Einleitung

Die schnelle und automatisierte Sortierung von Zellen und Partikeln hat vielfältige Anwendungen im Bereich den Biowissenschaften [19]. Sie wird beispielsweise eingesetzt, um Zellen aus gemischten Populationen auszusondern, die per Gentransfer bestimmte Proteine produzieren [69], um durch gerichtete Evolution Zelllinien mit bestimmten Eigenschaften heranzuzüchten [8], oder zur nichtinvasiven Gewinnung von fetalen Zellen für die Pränataldiagnostik aus einer Blutprobe der Mutter [45]. Doch nicht nur die Sortierung ganzer Zellen ist von Interesse; zur Vereinfachung von Genanalysen werden einzelne Chromosome aus dem Genom isoliert [23], auch die Sortierung von Zellorganellen wie beispielsweise dem Golgiapparat ist möglich [38].

Zur Sortierung von Zellen werden hauptsächlich zwei verschiedene Verfahren verwendet: Zum einen *Magnetic-activated cell sorting (MACS)*, bei dem magnetische Partikel mit spezifischen Antikörpern an die gewünschten Zellen gebunden werden. Anschließend können die so markierten Zellen in einem Magnetischen Feld separiert werden. Auf diese Weise lässt sich eine große Anzahl von Zellen in einem Schritt separieren. Jedoch werden für diese Methode entsprechende Antikörper benötigt, die nicht für alle Subpopulationen verfügbar

sind. Außerdem erschweren die an die Zelle gebundenen Partikel die weitere Analyse bzw. Kultivierung der Zellen [62].

Die zweite Methode ist die Durchflusszytometrie: Hier sind die zu sortierenden Partikel in einer Flüssigkeitsströmung suspendiert. Sie passieren zunächst einen Detektor, der optische Eigenschaften der Probe wie z. B. Lichtstreuung in verschiedene Richtungen, Absorption oder Fluoreszenz misst; aber auch elektrische Messungen wie beispielsweise die Impedanz der Zelle im elektrischen Wechselfeld werden eingesetzt. Auf diese Weise lassen sich, vor allem in Kombination mit verschiedenen Fluoreszenzfarbstoffen, eine große Anzahl von Zellpopulationen unterscheiden. Abhängig von den gemessenen Eigenschaften werden die Partikel anschließend in verschiedene Reservoirs sortiert.

Bei Fluorescence-Activated Cell Sorting (FACS), der meistgenutzten und ältesten Technik hierfür, wird der Flüssigkeitsstrom der Probe in einer Düse in einzelne Aerosoltröpfchen zerstäubt. Tropfen, die zu sortierende Zellen enthalten, werden beim Ablösen elektrostatisch geladen und anschließend in einem elektrischen Feld in das Sammelreservoir abgelenkt, während ungeladene Tropfen keine Ablenkung erfahren und im Ausschussreservoir landen [86]. Diese Methode hat jedoch einige Nachteile. Zum einen müssen FACS-Geräte beim Wechsel der Probe aufwendig gereinigt werden, um Kreuzkontamination zu vermeiden, was große Mengen an teuren Reagenzien erfordert. Außerdem ist die Erzeugung von Aerosol im Hinblick auf die Arbeitssicherheit insbesondere bei infektiösen Proben problematisch.

Deshalb werden alternative Sortierer entwickelt, bei denen der Sortiervorgang in geschlossenen mikrofluidischen Kanälen abläuft, wodurch die Aerosolproblematik entfällt. Da diese kostengünstig als Einmalartikel hergestellt werden können, sind aufwändige Reinigungsprozeduren unnötig. Die in kapillarbasierten Durchflusszytometriesystemen eingesetzten Analysemethoden zur Klassifikation der Proben können auch in Mikrokanälen eingesetzt werden [58, 14]. Für die Aktuation der zu sortierenden Teilchen müssen allerdings andere Techniken eingesetzt werden. Die wichtigsten herkömmlichen Techniken stelle ich im Folgenden kurz vor:

Bei sogenannten Optischen Pinzetten werden Zellen durch einen fokussierten Laserstrahl abgelenkt. Hierbei macht man sich zunutze, dass die Zellen aufgrund ihrer höheren optischen Dichte im Vergleich zum umgebenden Medium in einem Laserstrahl eine Kraft in Richtung des elektromagnetischen Feldgradienten, also zum Strahlzentrum hin, erfahren. Aufgrund der geringen Kräfte lassen sich hier jedoch nur geringe Sortierraten erzielen [52].

Anstatt Zellen in wässriger Lösung zu sortieren, werden diese in mikrofluidischen Tropfensortierern in Emulsionstropfen eingeschlossen, und dann diese Tropfen sortiert. Zum Sortieren werden dann beispielsweise pneumatische Ventile verwendet, die in den Mikrokanal integriert sind und schnelle Sortierraten bis zu 250 s^{-1} ermöglichen. Aufgrund der Schaltzeit der externen pneumatischen Ansteuerung lassen sich die Sortierraten nicht wesentlich erhöhen [7, 4].

Alternativ werden hierfür auch dielektrische Sortierer verwendet, bei denen die Tropfen durch einen elektrischen Feldgradienten abgelenkt werden. Dabei wird, ähnlich wie bei Optischen Pinzetten, der Dielektrizitätskontrast zwischen wässrigem Tropfen und ölig-er äußerer Phase ausgenützt. Da dieser Kontrast deutlich höher ist als der Kontrast zwischen wässrigem Zellplasma und äußerer Lösung, und außerdem hohe Feldgradienten von mehreren MV/m verwendet werden können, werden hier Sortierraten von bis zu 2000 Tropfen/s erreicht [8]. Nachteil dieser Methode ist allerdings, dass die hohen Feldgradienten zur Poration der Zellmembran führen können [22, 98]. Außerdem wird durch die Einkapselung der Zellen in Emulsionstropfen ein weiterer Prozessschritt nötig, was in manchen Fällen unerwünscht ist.

Im folgenden präsentiere ich einen alternativen mikrofluidischen Zellsortierer, der zur Aktuation der Partikel akustische Oberflächenwellen nutzt, und damit sowohl Zellen in wässriger Lösung als auch Tropfemulsionen sortieren kann.

4.2 Versuchsaufbau

4.2.1 Oberflächenwellenchip

Zur Erzeugung der Oberflächenwelle verwende ich einen tapered IDT, wie er in Abschnitt 2.2.1 beschrieben ist. Die genauen Abmessungen finden sich in Anhang A.1.1. Da sich die Lage des Schallpfades entlang der 0,5 mm breiten Apertur des Chips durch Änderung der Anregungsfrequenz beliebig positionieren lässt, kann die SAW genau auf die gewünschte Stelle im Fluidikkanal ausgerichtet werden.

4.2.2 Fluidikkanäle

In Abbildung 4.1 ist der Aufbau eines Sortierkanals dargestellt. Der Kanal verfügt über drei Einlässe: Über den Mittleren wird die Probe eingeleitet, die beiden Seiteneinlässe dienen zur Fokussierung der Probenflüssigkeit in die Mitte des Kanals. Dies dient zum einen dazu, die Probe für die Fluoreszenzdetektion im Fokus des Lasers zu positionieren, und zum anderen dazu, sicherzustellen, dass die Probe an der Verzweigung am Ende des Sortierbereichs in den korrekten Auslass fließt. Die zwei Auslässe dienen zum Sammeln der unterschiedlichen Populationen. Die Flüsse werden durch mit den Einlässen verbundene Spritzenpumpen¹ erzeugt. Hier liegt die Flussrate des Probekanals um ca. 1-2 Größenordnungen unter denen der Seitenkanäle. Die Flussraten der Seitenkanäle wird so eingestellt, dass die Probe ohne Einfluss der Oberflächenwelle knapp unterhalb der Trennnase ins Ausschussreservoir gespült wird. Der Mikrokanal hat durchgängig eine Höhe von 50 μm , der Sortierbereich ist 200 μm breit.

¹PHD 2000 Infusion, Harvard Apparatus, Holliston, MA, USA

Der Fluidikkanal ist zweilagig aufgebaut. Die ca. 5 mm dicke Oberseite enthält den eigentlichen Mikrokanal. Dieser wird nach unten durch eine 15 μm dicke PDMS-Folie abgeschlossen, aus der nach unten eine PDMS-Stütze weitere 15 μm hervorragt. Diese wird im Sortierbereich des Kanals positioniert. Im Experiment wird der Fluidikkanal dann so positioniert, dass die Stütze im Bereich des Schallpfades der SAW aufsitzt; eine exakte Ausrichtung ist nicht nötig, da die Position des Schallpfades durch Modulation der Anregungsfrequenz festgelegt werden kann. Die SAW wird im Gegensatz zu der im vorherigen Kapitel vorgestellten Mikropumpe nicht längs, sondern quer zur Flussrichtung eingekoppelt.

4.2.3 Optischer Aufbau

Die Experimente werden am Mikroskop² mit einer Hochgeschwindigkeitskamera aufgenommen. Gleichzeitig wird eine Fluoreszenzmessung der Proben durchgeführt. Die Proben sind mit Fluorescein oder Calcein eingefärbt, die ein Absorptionsmaximum bei einer Wellenlänge von 460 nm bzw. 495 nm und ein Emissionsmaximum bei 515 nm bzw. 516 nm aufweisen. Zur Messung wird in den Mikrokanal im Aufsicht ein blauer Laserstrahl ($\lambda = 473 \text{ nm}$) fokussiert. Die Fluoreszenzemission der Probe wird durch einen Strahlteiler und einen Bandpassfilter auf einen Photodetektor gelenkt, der die Fluoreszenzintensität misst. Um den Fluidikkanal gleichzeitig im Durchlicht per Hochgeschwindigkeitskamera aufnehmen zu können, wird im Kondensor außerdem ein Langpass-Farbfilter eingesetzt, der nur Licht mit einer Wellenlänge $\lambda > 584 \text{ nm}$ durchlässt; so wird verhindert, dass die Beleuchtung in den Detektor einstreut und das Detektionssignal überlagert. Der optische Aufbau ist in Abbildung 4.2 (links) dargestellt.

4.2.4 Steuerungseinheit

Um die Probe mit hohen Raten automatisiert sortieren zu können, wird ein *Field-Programmable-Gate-Array* (FPGA) eingesetzt. Dies ist ein programmierbarer Digitalschaltkreis, der Echtzeitberechnungen in hoher Geschwindigkeit durchführen kann. Er ist auf einer PCI-Karte mit einem PC verbunden und wird per LabView programmiert. Über ein graphisches Softwareinterface wird das Messsignal dargestellt und die Sortierparameter eingegeben.

Die Auswertung des Messsignals des Photodetektors ist in Abbildung 4.2 (rechts) schematisch dargestellt. Über einen AD-Konverter wird das Messsignal ausgelesen. Übertrifft das Messsignal einen vorgegebenen Schwellwert, wird kontinuierlich das Messsignal registriert, bis der Schwellwert wieder unterschritten ist. Die Software berechnet anschließend die Dauer sowie den Maximalwert des Signals. Dann werden diese drei Werte mit vorgegebenen Parametern verglichen und bei Übereinstimmung wird ein Sortiersignal ausgelöst. In der Regel

²Olympus CKX-41, Olympus Deutschland GmbH, Hamburg

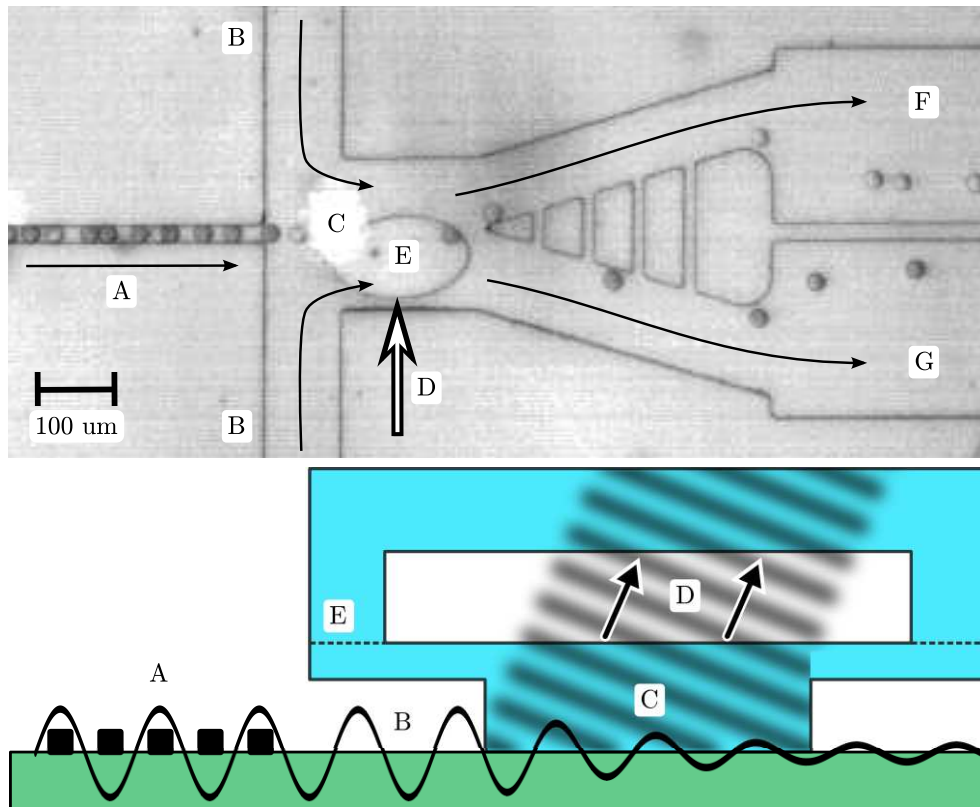


Abbildung 4.1: (oben) Der Sortierkanal in der Draufsicht: Die Probenpartikel werden durch einen dünnen Zulaufkanal (A) eingeleitet und durch eine Mantelströmung aus zwei Seitenkanälen (B) in die Mitte des Sortierkanals fokussiert. Dort passieren die Partikel den Laserfokus (C), wo deren Fluoreszenz gemessen wird. Wird ein entsprechendes Fluoreszenzsignal detektiert, so wird in einem IDT eine Oberflächenwelle erzeugt, die sich in einem schmalen Wellenzug entlang der Chipoberfläche ausbreitet (D) und an der aufliegenden PDMS-Stütze (E) in den Mikrokanal einkoppelt. Durch die akustische Welle werden die Partikel nach oben abgelenkt und fließen ins Sammelreservoir (F). Ohne SAW-Ablenkung fließen die Zellen ins Ausschussreservoir (G). (unten) Querschnitt des Sortierkanals: Die Oberflächenwelle wird am IDT erzeugt (A), propagiert ungedämpft über das Substrat (B) und koppelt über die PDMS-Stütze (C) in den Mikrokanal ein, wo die akustische Welle eine Kraft auf die Flüssigkeit erzeugt (D). Die gestrichelte Linie (E) zeigt die Nahtstelle zwischen den beiden Lagen des PDMS-Kanals an.

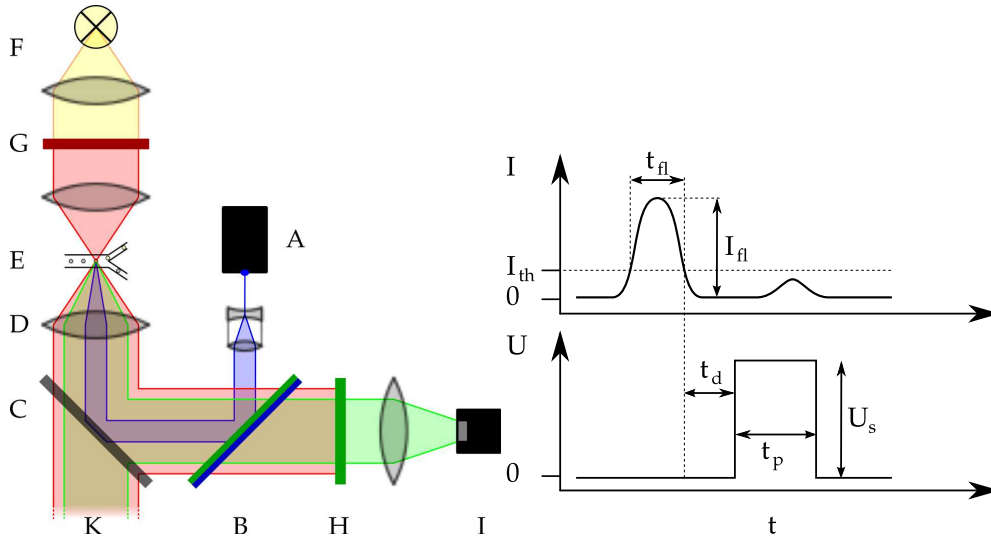


Abbildung 4.2: (links) Skizze des optischen Aufbaus zur Fluoreszenzdetektion: Ein Laserstrahl (blau) wird aufgeweitet (A) und durch einen dichroitischen Spiegel (B) und einen Polarisationspiegel (C) in den optischen Strahlengang eines invertierten Mikroskops eingekoppelt und durch das Objektiv (D) in die Probe (E) fokussiert. Die Probe wird außerdem von der Oberseite durch eine Halogenlampe (F) beleuchtet, aus deren Licht durch einen Farbfilter im Kondensor (G) die kurzwelligeren Anteile ausgefiltert werden. Das vom Objektiv eingefangene Licht, das die Probe zum einen im Durchlicht (rot) zeigt, aber auch das Fluoreszenzsignal (grün) enthält, transmittiert dann zur Hälfte am Polarisationspiegel (C) und wird über den optischen Strahlengang des Mikroskops (K) auf den Bildsensor der Hochgeschwindigkeitskamera projiziert. Außerdem wird ein Teil des Lichts am Polarisationspiegel reflektiert. Um ein Einstreuen des Beleuchtungslichtes in den Detektor (I) zu verhindern, wird ein Farbfilter (H) eingesetzt. Auf diese Weise kann eine starke Durchlicht-Beleuchtung eingesetzt werden (was Hochgeschwindigkeitsaufnahmen mit hoher Bildrate ermöglicht), und gleichzeitig schwache Fluoreszenzsignale detektiert werden. Steuerung des Sortierers: (rechts) Das Messsignal des Photodetektors (rechts oben) wird überwacht. Überschreitet das Signal die Schwelle I_{th} , so wird die maximale Intensität I_{fl} sowie die Zeitdauer t_{fl} bestimmt und mit den voreingestellten Sortierparametern verglichen und gegebenenfalls ein Sortierimpuls (rechts unten) mit Verzögerung t_d und Dauer t_p ausgelöst, der den HF-Generator moduliert.

wird der Maximalwert zur Sortierung verwendet, dieser entspricht der Fluoreszenzintensität des Partikels. Es ist auch möglich, zwei Parameterbereiche zu definieren, um beispielsweise Partikel mit unterschiedlicher Fluoreszenzintensität getrennt zu sortieren.

Durch ein Sortiersignal können an zwei getrennten Analogausgängen der FPGA-Karte Spannungssignale ausgelöst werden, wobei sich eine Zeitverzögerung und die Dauer des Signals einstellen lässt. Über einen Ausgang wird der Hochfrequenzgenerator pulsmoduliert, in einigen Experimenten wird über den zweiten Ausgang zusätzlich die Frequenz des HF-Signals moduliert.

4.2.5 Sortierte Proben

Es wird die Sortierung von zwei verschiedenen Proben untersucht: Zum einen wurden B16F10 Mäuse-Melanomzellen verwendet. Diese Zellen werden in der Krebsforschung verwendet, um den Einfluss von Medikamenten auf Tumorstadium und Metastasierung zu untersuchen.[84, 61, 101].

Zum anderen werden monodisperse Tropfenemulsionen mit ca. 30 µm großen Tropfen verwendet. Diese können als Mikroreaktoren zur Einkapselung von einzelnen Zellen oder Bakterien verwendet werden.[10, 8]

Zellen

Die Zellen werden mit Calcein-AM³ angefärbt. Dieser Assay besteht aus dem Acetoxymethylester des Calceins, der durch die Zellmembran ins Zellinnere diffundieren kann. Dort werden durch Esterasen das Calcein abgespalten, das die Membran gesunder Zellen nicht durchdringen kann und sich deshalb in der Zelle anreichert. An der Calceinkonzentration kann somit die Esteraseaktivität im Zellinneren und damit indirekt die Viabilität der Zelle gemessen werden.[12, 35] Aufgrund der unterschiedlich starken metabolischen Aktivität der Zellen ergibt sich eine starke Variabilität der Fluoreszenzintensität zwischen den einzelnen Zellen.

Anschließend werden die Zellen durch ein Zellsieb gespült, um aggregierte Zellhaufen zu trennen, und in phosphatgepufferter Salzlösung (PBS) suspendiert. Um ein Absinken der Zellen in der Spritzenpumpe oder in den Zuleitungen zu verhindern, wird die Dichte der Zellsuspension außerdem durch Zugabe von Optiprep⁴ an die Dichte der Zellen angepasst.

Tropfenemulsion

Alternativ wird eine Tropfenemulsion sortiert. Hierzu wurden in einem Flow-Focussing-Tropfengenerator Emulsionen monodisperser wässriger Tröpfchen in einer apolaren Hydrofluoretherlösung (HFE7500) hergestellt. Die Oberfläche

³Calcein-AM, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA

⁴OptiPrepTM Density Gradient Medium, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA

der Tropfen wurde durch Zugabe von 1 % eines PFPE-PEG-Kopolymers zur äußeren Lösung stabilisiert, der als biokompatibles Tensid wirkt[44]. Als wässrige Lösung werden zum einen eine nichtfluoreszente, mit 20 mM versetzte Bromphenolblaulösung und zum anderen eine 1 mM Fluoreszeinlösung verwendet, um zwei unterschiedliche Tropfenpopulationen zu erhalten, die sowohl optisch im Durchlichtmikroskop als auch durch Fluoreszenzdetektion unterscheidbar sind. Für den Dreifachsortierer werden außerdem Tropfen mit einer 0,3 mM Fluoreszeinlösung hergestellt. Um osmotisch getriebenen Flüssigkeitsaustausch zwischen benachbarten Tropfen zu verhindern, wird die Osmolarität der Tropfen durch Zugabe von Sucrose angepasst.

Zum gründlichen Durchmischen der verschiedenen Tropfen wird in einem Eppi 1 ml einer 1:1 bzw. 1:1:1-Mischung angesetzt und durch Zugabe von 0.5 ml HFE verdünnt. Anschließend wird die Flüssigkeit im geschlossenen Eppi einige Minuten durch ständiges Umdrehen vermischt. Starkes Schütteln sollte unbedingt vermieden werden, da der resultierende Scherfluss die Tropfen auseinander reißen kann und eine multidisperse Emulsion entsteht.

4.3 SAW-getriebenes Flussfeld im Sortierkanal

Die Oberflächenwelle koppelt über die PDMS-Stütze in den Fluidikkanal ein und erzeugt dort eine gedämpfte Schallwelle, deren Impuls an die Flüssigkeit abgegeben wird. Um den Aktuationsmechanismus zu charakterisieren, wird das durch die SAW verursachte Flussfeld im Mikrokanal sowohl experimentell vermessen als auch theoretisch simuliert.

Im Sortierbetrieb wird durch die Spritzenpumpen außerdem ein Volumenfluss durch die drei Einlässe gepumpt, der ein Poiseuille-Flussprofil erzeugt. Durch die SAW-Aktuation wird dieses Flussfeld modifiziert, was die Ablenkung der Partikel bewirkt.

4.3.1 Experimentelle Beobachtung

Das Flussfeld wird zunächst experimentell bestimmt. Dazu wird der Mikrokanal mit einer Lösung von 1 μm großen Latexbeads befüllt und das Flussprofil unter dem Mikroskop mit einer Hochgeschwindigkeitskamera aufgenommen. Die Aufnahmen werden mittels Particle Image Velocimetry (PIV) ausgewertet. Das aufgenommene Flussfeld (Abb. 4.3) zeigt, dass die Flüssigkeit über der Einkoppelstelle entlang der SAW-Ausbreitungsrichtung beschleunigt wird und in zwei gegenläufigen Wirbeln zurück fließt. Das Geschwindigkeitsfeld senkrecht zur Beobachtungsebene (z-Richtung) ist der Beobachtung allerdings nicht zugänglich.

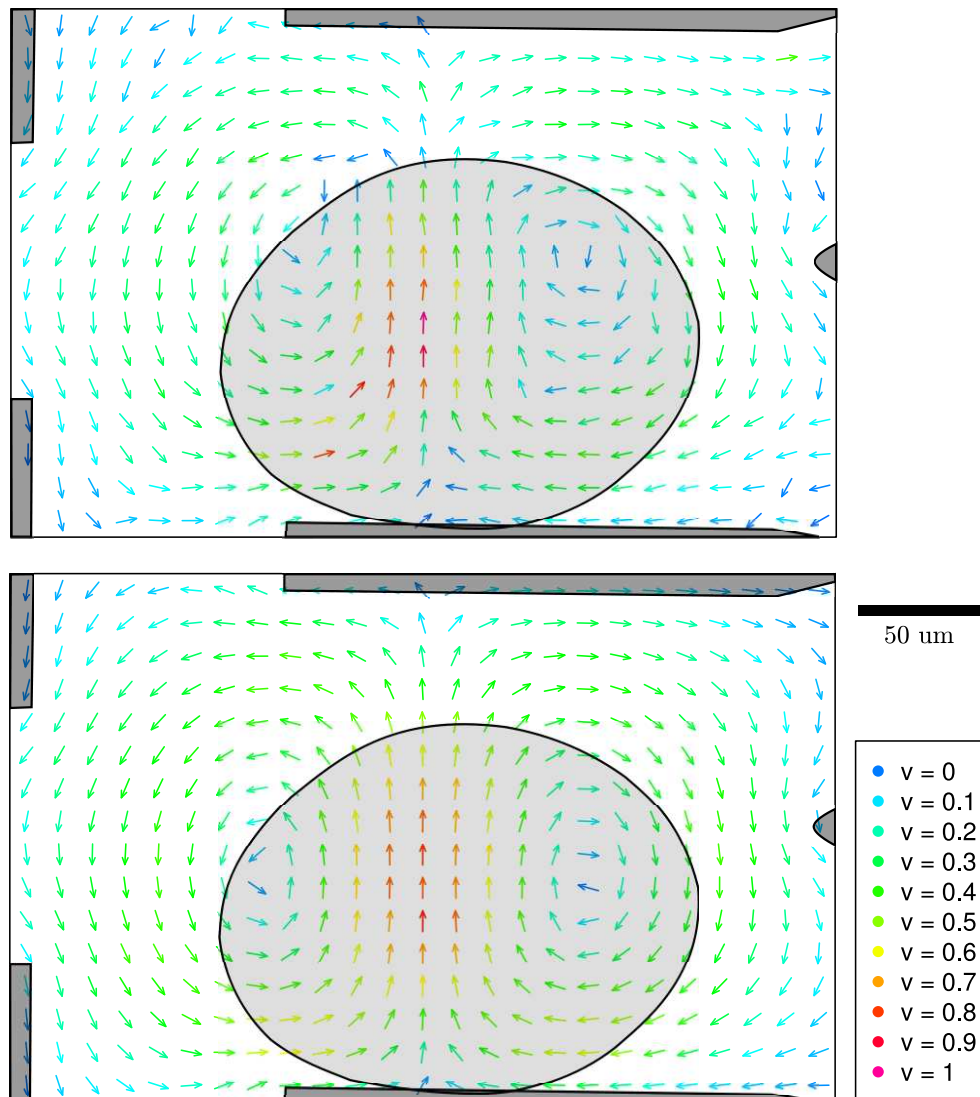


Abbildung 4.3: (oben) Mit PIV aufgenommenes Flussfeld der SAW-Strömung im Sortierkanal. Die SAW koppelt durch die hellgrau dargestellte Stütze in den Mikrokanal ein und erzeugt zwei gegenläufige Wirbel, mit maximaler Geschwindigkeit über der Einkoppelstelle. (unten) Das mit COMSOL simulierte Flussprofil stimmt gut mit dem experimentell ermittelten Profil überein.

4.3.2 Simulation

Das Flussfeld wird außerdem mit COMSOL Multiphysics⁵ simuliert. Dabei wird die Navier-Stokes-Gleichung der Flüssigkeit mittels der Finite-Elemente-Methode (FEM) gelöst. Dabei wird das Flüssigkeitsvolumen in kleine Elemente aufgeteilt, deren Größe kleiner als die charakteristische Größe der zu simulierenden Flüssigkeitsströmung gewählt werden muss. Für die Simulation der akustische Welle müsste die Elementgröße deutlich kleiner als die Wellenlänge gewählt werden, was einen extrem hohen Rechen- und Speicheraufwand zur Folge hätte[31].

Deshalb wird nur die stationäre Strömung simuliert und die akustische Ak-tuation als Volumenkraft auf die Flüssigkeit eingeführt. Wie in Abschnitt 2.2.5 beschrieben, ist die Volumenkraft \mathbf{f} nur von der Intensität der Schallwelle E und deren Dämpfungslänge ς abhängig. Die Intensität der Schallwelle in der Flüssigkeit wird aus dem Querprofil der Oberflächenwelle und der Dämpfungslänge der SAW ζ sowie der Dämpfungslänge der Schallwelle in der Flüssigkeit ς bestimmt.

Als Randbedingung für die Kanalwände wird no-slip verwendet, das heißt dass die Strömungsgeschwindigkeit in Wandnähe für alle Richtungskomponenten Null ist.

Das Ergebnis der Simulation deckt sich mit den experimentell ermittelten Daten. Wie man Abbildung 4.4 entnehmen kann, zeigen beide Flussprofile zwei gegenläufige Vortizes, auch deren Position und Abstand sowie das Geschwindigkeitsmaximum mittig über der PDMS-Stütze stimmen gut überein. Darüber hinaus zeigt ein Blick auf den Querschnitt der Flüssigkeitsströmung entlang der yz-Ebene (Abb. 4.4 unten), dass sich hier im Vergleich zum Flussprofil der in Abschnitt 3.3.2 vermessenen Mikropumpe nur sehr schwache senkrechte Vortizes in den Ecken des Kanals ausbilden. Der entlang der z-Achse wirkende Anteil der Streaming-Kraft führt aufgrund der geringen z-Höhe des Kanals nur zu einer geringen z-Geschwindigkeitskomponente. Dies zeigt, dass sich das Flussfeld durch die Kanalgeometrie anpassen lässt.

⁵COMSOL Multiphysics 4.2a, COMSOL Inc., 100 District Avenue, Burlington, MA 01803, USA

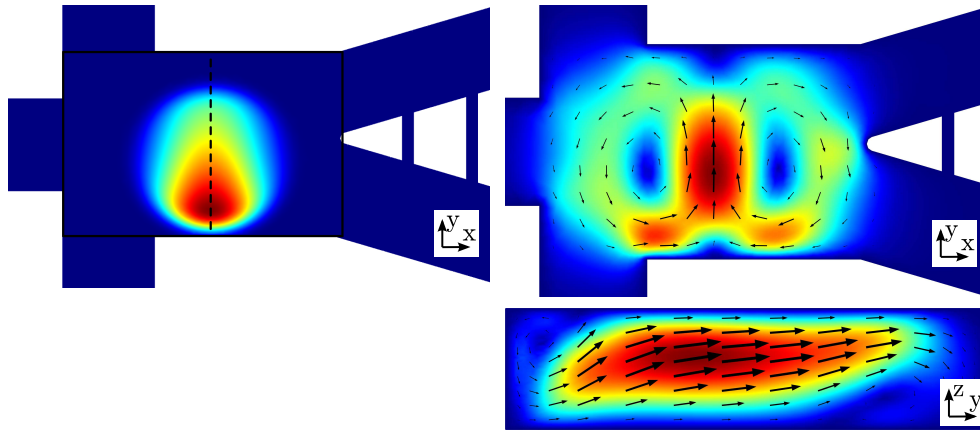


Abbildung 4.4: (oben links) Der Plot zeigt die Volumenkraft auf die Flüssigkeit oberhalb der PDMS-Stütze, die der Simulation zugrunde liegt. (oben rechts) Durch Simulation ermitteltes Flussfeld im Mikrokanal entlang der xy-Ebene. (unten rechts) Flussfeld entlang der rechts oben gestrichelt dargestellten Schnittebene. Obwohl die Volumenkraft entsprechend des Rayleighwinkels von $22,3^\circ$ zur z-Achse geneigt ist, verläuft der Fluss aufgrund der Kanalgeometrie hauptsächlich in y-Richtung.

4.4 SAW-aktuierte Ablenkung eines Flüssigkeitsjets

Um Objekte sortieren zu können, wird die Probenflüssigkeit durch die beiden Seitenkanäle in die Mitte des Kanals fokussiert. Diese drei Strömungen vermischen sich aufgrund der Laminarität des Flussfeldes nicht miteinander, sondern fließen nebeneinander durch den Sortierbereich. Auf diese Weise bildet die Probenflüssigkeit einen dünnen Jet, dessen Breite von der Flussrate der Einlässe abhängt. Durch die SAW lässt sich dieser Flüssigkeitsjet ablenken. Im folgenden charakterisiere ich diese Ablenkung genauer.

4.4.1 Experimentelle Beobachtung

Zur Probenlösung wurde im Experiment Optiprep zugegeben (siehe Abschn. 4.2.5). Dies ändert die optische Dichte der Lösung und führt so zu einem deutlichen Kontrast im Hellfeldbild. Bei abgeschalteter Oberflächenwelle bildet der Jet eine dünne Linie in der Mitte des Sortierbereichs (Abb. 4.5 oben). Schaltet man die SAW durch einen kurzen Hochfrequenzpuls für 1 ms an, so wird der Jet in der Mitte des Sortierbereichs nach oben abgelenkt, davor und dahinter ist eine schwache Ablenkung nach unten erkennbar. Nach dem Abschalten der SAW fließt der „verbogene“ Jet weiter in Richtung der Auslässe, wo der nach oben abgelenkte Teil in den Sammelauslass fließt. Vor allem in

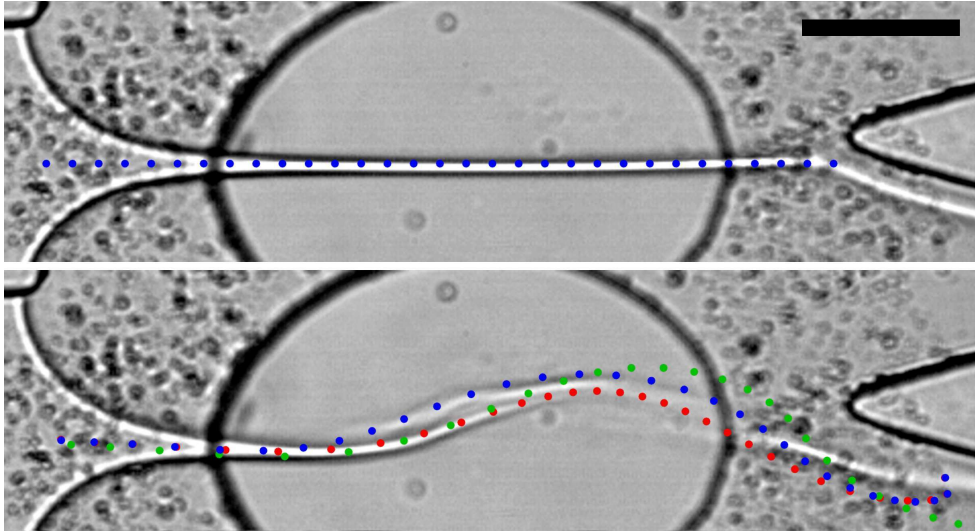


Abbildung 4.5: (oben) Aufnahme des ungestörten Jets, der sich durch die Flussfokussierung der Probenlösung im Sortierbereich bildet. Die Flussraten der Seitenkanäle werden hier so gewählt, dass die Probenlösung an der Abzweigung ins Ausschussreservoir gelenkt wird. (unten) Ablenkung des Jets beim Einschalten eines 1 ms langen SAW-Pulses. In der Mitte des Jets bildet sich eine deutliche Ausbeulung nach oben, während links und rechts davon eine leichte Ablenkung nach unten auftritt. Außerdem verbreitert der Jet sich durch die Ablenkung, was auf unterschiedlich starke Ablenkung in verschiedenen z-Höhen des Kanals hinweist. Die Datenpunkte zeigen das Ergebnis einer numerischen Simulation der Jet-Ablenkung. Hier wurde die Position des Jets durch Tracer-Partikel in drei verschiedenen z-Höhen dargestellt: (rot) 10 μm über dem Kanalboden; (grün) Kanalmitte; und (blau) 10 μm unter der Kanaldecke. Die gute Übereinstimmung von Simulation und Experiment zeigt, dass sich der Effekt der SAW durch Eckard-Streaming erklären lässt. Der Maßstabsbalken hat eine Länge von 50 μm .

der Mitte des Sortierbereichs ist außerdem eine deutliche Verbreiterung des Jets erkennbar.

4.4.2 Theoretische Beschreibung und Simulation

Die beschriebene Ablenkung des Jets lässt sich mit Hilfe des in Abschn. 4.3 gemessenen Flussfeldes qualitativ erklären. Die Richtung und Stärke der Ablenkung entspricht genau dem gemessenen Vortex (Abb. 4.3). Die in der Simu-

lation erkennbare Verbreiterung des Jets entsteht dadurch, dass die Geschwindigkeit des Vortex und damit die effektive Ablenkung des Jets in der Nähe von Kanalboden und -decke deutlich geringer ist als in der Kanalmitte, was sich aus dem simulierten Geschwindigkeitsfeld (Abb. 4.4 unten rechts) entnehmen lässt.

Die Form des Jets lässt sich durch eine Erweiterung der FEM-Simulation (Abschn. 4.3.2) erstaunlich genau voraussagen. Hierzu wurde die Simulation um vorgegebene Volumenströmungen durch die drei Zuflüsse ergänzt. Damit ergibt sich eine Überlagerung von Poiseuille-Fluss aufgrund der vorgegebenen Volumenflüsse und einem SAW-getriebenen Vortex. Die Jet-Position wurde durch Tracer-Partikel simuliert, deren Startpunkte entsprechen der Lage des unabgelenkten Jets in der Kanalmitte positioniert waren. Die Tracerpartikel wurden außerdem in drei verschiedenen z-Höhen positioniert, jeweils 10 μm von Kanalboden und -decke entfernt sowie in der Kanalmitte. Die Ablenkung der simulierten Partikel ist in Abb. 4.5 (farbige Datenpunkte) dargestellt. Sie gibt sowohl die Position des Jets als auch dessen Verbreiterung gut wieder.

4.4.3 Diskussion

Die Ablenkung des Jets durch die gepulste SAW zeigt, dass sich Flüssigkeitsvolumina gezielt in den Sammel-Auslass „verschieben“ lassen. Mit Hilfe dieses Effekts werden im folgenden in der Flüssigkeit suspendierte Teilchen sortiert.

Die Simulation zeigt außerdem, dass die Ablenkung alleine durch das akustische Eckard-Streaming hervorgerufen wird. Da dieses Streaming unabhängig von den akustischen und mechanischen Eigenschaften der suspendierten Teilchen ist, ermöglicht dies ein breites Anwendungsspektrum des Sortierers – jedes Teilchen, dass sich in einer Flüssigkeit suspendieren lässt, lässt sich auch sortieren.

Diese Vielseitigkeit des Sortierers werde ich im Folgenden anhand von verschiedenen Zellen sowie einer Tröpfchenemulsion demonstrieren.

4.5 SAW-getriebene Ablenkung von Zellen

Um die Eignung des Aufbaus zum Sortieren von Zellen zu demonstrieren, werden im folgenden Suspensionen verschiedener Zellen mit Hilfe einer durch eine Rechteckfunktion modulierten SAW zwischen dem Sammel- und Ausschuss-Reservoir des Sortierers hin- und hergeschaltet. Die Zellen werden mit Hilfe der Seitenkanäle wie in Abschn. 4.2.2 flussfokussiert. Die Pulsfrequenz wird variiert und die Ablenkung der Zellen ermittelt, woraus sich die maximal erzielbare Sortierrate abschätzen lässt.

4.5.1 Verwendete Zellen

Es werden drei verschiedene Zelllinien verwendet: MV3-Melanomzellen (bezogen von S. Schneider, Münster), Mäusefibroblasten L929 (bezogen von S. Thalhammer, München) und menschliche Keratinocyten (HaCaT-Zellen, Biochrom AG, Berlin). Die MV3-Zellen werden in MEM-Medium (PAA, Cölbe), die Mäusefibroblasten und die HaCaT-Zellen in RPMI-Medium (Biochrom AG, Berlin) inkubiert.

Den Medien werden zusätzlich 10 % Fetales Kälberserum (PAA, Cölbe) sowie 1 % Streptavidin/Penicillin zugegeben. Die Zellen werden mittels Zugabe von Trypsin/EDTA geerntet, und anschließend für die Sortierexperimente resuspendiert in einer 0,85 %igen (w/v) NaCl-Lösung, die mit 30mM HEPES pH-gepuffert und mit 1 % (w/v) BSA versetzt ist.

Um ein Absinken der Zellen zu verhindern, wird außerdem die Dichte der Lösung durch Zugabe von 15 % Optiprep Density Gradient Medium (Sigma-Aldrich, München) an die Zelldichte angepasst. Für die Mantelströmung aus den Seitenkanälen wird reines PBS (pH 7,4) verwendet.

4.5.2 Theoretische Beschreibung der Ablenkung

Die y-Position des Jets auf Höhe der Trennnase zwischen den Auslasskanälen bestimmt, in welchen Auslass die Zellen abgelenkt werden. Abb. 4.6 zeigt ein theoretisches Modell, das diese Ablenkung in Abhängigkeit von der Phase des Rechteck-Modulationssignals der SAW beschreibt. Dem Modell liegen drei Annahmen zugrunde:

1. Die Flüssigkeit des Jets und die darin suspendierten Zellen bewegen sich mit konstanter Geschwindigkeit v_{flow} durch den Sortierbereich.

Diese Annahme ist durch den konstanten Kanalquerschnitt gerechtfertigt. Nur im Bereich der Trennnase ergeben sich leichte Abweichungen.

2. Der Jet wird im Abschnitt zwischen x_{ON} und x_{OFF} durch die SAW mit konstanter Geschwindigkeit seitlich abgelenkt, außerhalb dieses Abschnitts findet keine Ablenkung statt

Die genaue Ablenkung, wie sie in Abschn. 4.3 beschrieben ist, wird hier zugunsten eines zugänglichen Modells stark vereinfacht.

3. Die Ablenkung tritt sofort beim Einschalten der SAW auf und endet sofort beim Abschalten

Hier wird die in Abschn. 3.3.4 beschriebene Relaxationszeit vernachlässigt.

Aus diesem Modell ergibt sich der in Abb. 4.6 beschriebene Verlauf der Jet-Ablenkung an der Trennnase: Zunächst behält der Jet seine Ausgangslage y_{min} bei, da die Störung zunächst die Strecke x_{ON} zurücklegen muss. Anschließend

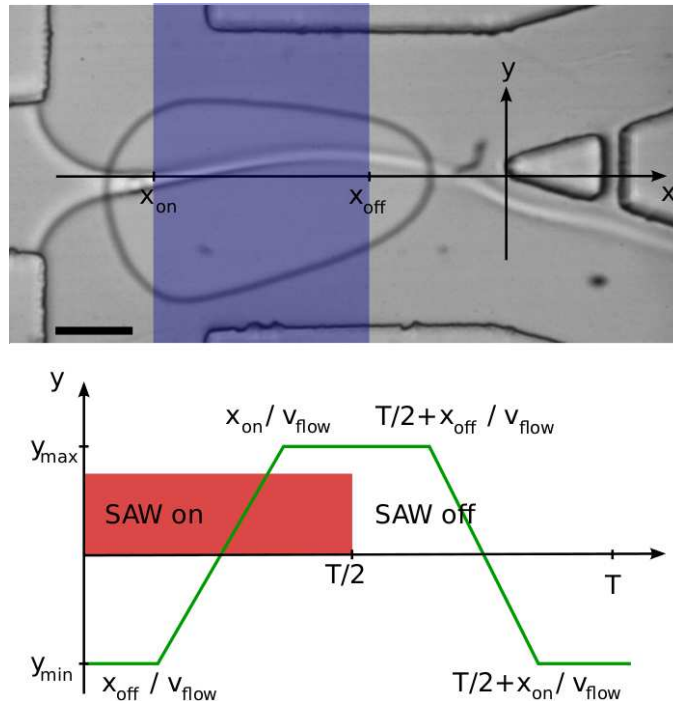


Abbildung 4.6: (oben) Modell der Jet-Ablenkung durch die SAW: Der Jet wird im Einflussbereich der SAW zwischen x_{ON} und x_{OFF} abgelenkt. (unten) Die Jet-Ablenkung (grüne Linie) an der Position der Trennnase ($x = 0$) findet zeitverzögert zur Modulation der SAW (roter Balken) statt. Die Verzögerung hängt von der Flussgeschwindigkeit v_{flow} des Poiseuille-Flusses in der Kanalmitte und der Position der SAW (x_{ON} bis x_{OFF}) ab.

steigt die Ablenkung linear an, da der Jet länger und länger der Ablenkung der SAW ausgesetzt ist, bis die Ablenkung ihr Maximum y_{max} erreicht. Beim Abschalten nach der Hälfte der Periodendauer T sinkt die Jet-Ablenkung nach einer entsprechenden Verzögerung wieder auf die Ausgangslage y_{min} ab. Wird die Periodendauer T kürzer gewählt als die Transitzeit des SAW-Abschnitts $T < (x_{\text{ON}} - x_{\text{OFF}})/v_{\text{flow}}$, so erreicht der Jet nicht seine maximal mögliche Auslenkung, und die Ablenkamplitude nimmt ab.

4.5.3 Experimentelle Beobachtung und Diskussion

Zwei wichtige Fragen sind für die Charakterisierung eines Zellsortierers von Bedeutung: Zum einen der erzielbare Zelldurchsatz, die Ablenkrate, wobei hier in der Regel eine Abwägung zwischen Genauigkeit und Geschwindigkeit getroffen

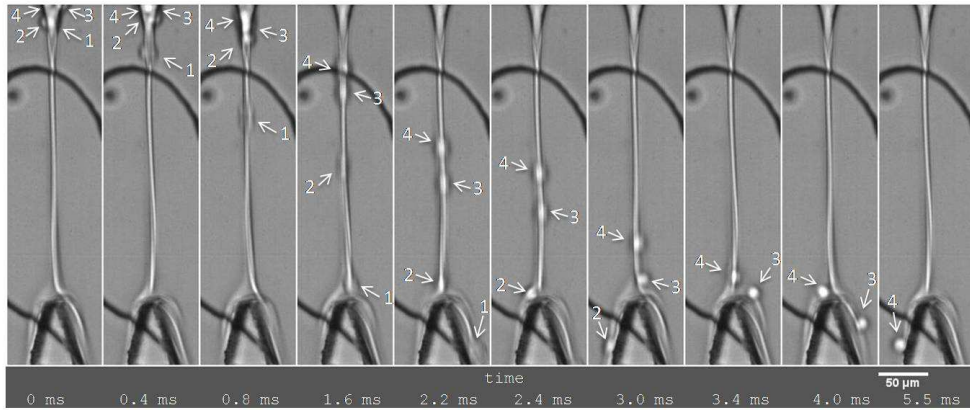


Abbildung 4.7: Ablenkung von vier aufeinanderfolgenden MV3-Zellen in jeweils unterschiedliche Auslässe. Hier wurde die SAW mit einer Frequenz von 1kHz moduliert. Da die Zellen in einem zeitlichen Abstand von ca. 0,5 ms den Sortierer durchqueren, werden die erste und die dritte Zelle jeweils von der SAW erfasst und nach rechts in den Sammel-Auslass abgelenkt, während die anderen beiden Zellen in den Ausschuss-Auslass fließen.

werden muss. Zum zweiten die Frage, ob die Zellen durch den Ablenkvorgang beeinflusst werden, insbesondere ob sie durch die Sortierung abgetötet werden.

Erzielbare Sortierrate

Durch die Ablenkung des Jets lassen sich die darin suspendierten Zellen durch die SAW vom Ausschuss-Reservoir und Sammel-Reservoir umleiten. Abb. 4.7 zeigt die Ablenkung von vier in kurzem Abstand aufeinanderfolgenden Zellen, die durch eine per Rechteckfunktion mit einer Frequenz von 1kHz modulierte SAW jeweils abwechselnd in die beiden Auslässe gelenkt werden. Der zeitliche Abstand zwischen den Zellen beträgt nur jeweils 0,5 ms – damit ergibt sich eine Rate von 2000 Zellen pro Sekunde, die unabhängig voneinander abgelenkt werden können.

Um diese maximale Rate genauer zu bestimmen, wurde für jede beobachtete Zelle der Phasenwinkel $\varphi =: t/T$ bestimmt, wobei t die Zeitdauer zwischen dem letzten Ausschalten der SAW und dem Eintreffen der Zelle an der Trennnase, und T die Periodendauer der Modulation ist. Ein Histogramm der abgelenkten Zellen in Abhängigkeit von der Phase (Abb. 4.8) zeigt, dass die Zellen bei bestimmten Phasenlagen ausschließlich ins Ausschuss- ($\varphi_{\text{Ausschuss}}$) bzw. Sammel-Reservoir (φ_{Sammel}) abgelenkt werden. Es besteht jedoch immer auch ein Zwischenbereich, bei dem es letztendlich vom Zufall abhängt, wohin die Zellen abgelenkt werden. Dieser Zwischenbereich ($\varphi_{\text{ON-OFF}}$ bzw. $\varphi_{\text{OFF-ON}}$)

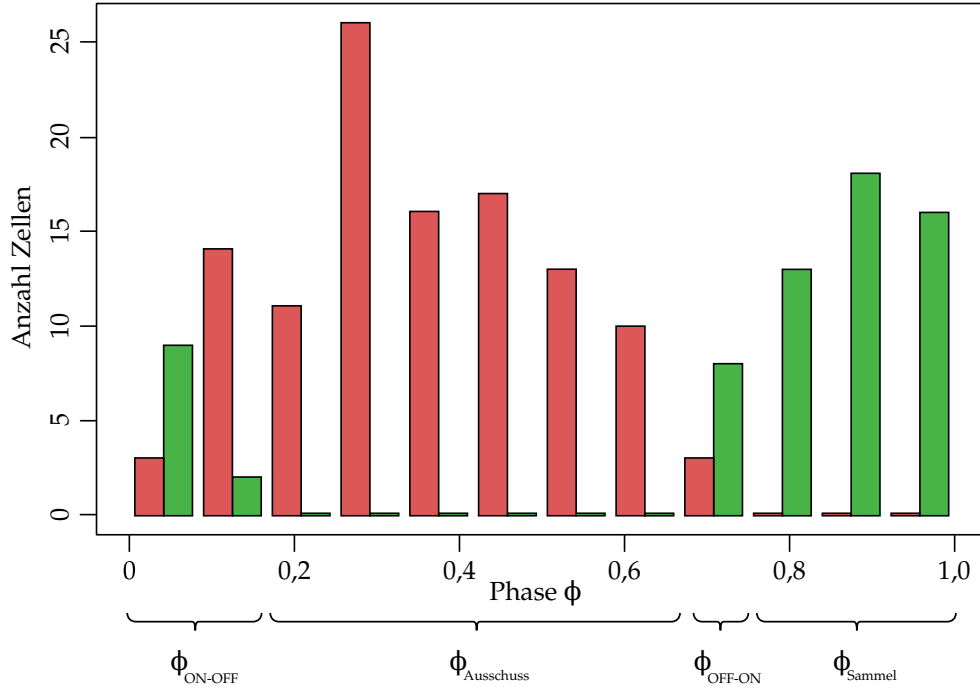


Abbildung 4.8: Das Histogramm zeigt die Ablenkung von MV3-Zellen bei einer Modulationsfrequenz von 1 kHz. Die Balken stellen die Anzahl an Zellen dar, die ins Ausschussreservoir (rot) bzw. ins Sammelreservoir (grün) gelenkt werden, abhängig von der Phase φ der SAW-Modulation. Während bestimmter Intervalle ($\varphi_{\text{Ausschuss}}$ bzw. φ_{Sammel}) werden alle Zellen in den entsprechenden Auslass sortiert (Ablenkeffizienz 100 %), in den kurzen Zwischenphasen ($\varphi_{\text{ON-OFF}}$ bzw. $\varphi_{\text{OFF-ON}}$) werden Zellen in beide Kanäle sortiert.

entspricht dem linearen Anstieg bzw. Abfallen der Lage des Jets im Modell (Abschn. 4.5.2).

Entsprechende Histogramme wurden für verschiedenen Zellen und Modulationsfrequenzen erstellt und daraus die Länge der jeweiligen Phasen bestimmt (Tabelle 4.1). Dabei fällt auf, dass mit zunehmender Modulationsfrequenz wie erwartet die Zwischenphasen immer länger, und die Phasen mit fehlerfreier Ablenkung kürzer werden. Oberhalb einer kritischen Frequenz tritt dann bei keiner Phasenlage mehr eine fehlerfreie Ablenkung aller Zellen in einen bestimmten Auslass auf – es kommt zu Fehlsortierungen, die in den Spalten „Sammel“ und „Ausschuss“ vermerkt sind.

Für einen mit automatischem Detektor ausgestatteten Zellsortierer lässt sich aus dieser kritischen Frequenz die maximal erzielbare Sortierrate bestimmen.

Da während jeder Periode T der Jet in beide Reservoirs gelenkt wird, beträgt diese maximale Sortierrate das doppelte der kritischen Frequenz.

Die kritische Frequenz lässt sich aus dem in Abb. 4.8 (oben) dargestellten Histogramm abschätzen. Es wurde bei einer Modulationsfrequenz von 1 kHz aufgenommen und zeigt Übergangsphasen, deren Länge ca. $3/12T$ beträgt. Würde man die Modulationsfrequenz also um den Faktor 4 erhöhen, so würde die Übergangsphase die gesamte Periodendauer umfassen – damit beträgt die theoretisch erzielbare kritische Frequenz 4 kHz, was einer Sortierrate von 8000 Zellen pro Sekunde entspricht. Experimentell wurde bei einer Maximalfrequenz von 2 kHz mit Mäusefibroblasten 100 % Ablenkeffizienz erzielt.

Frequenz	φ_{Sammel}	$\varphi_{\text{Aussch.}}$	$\varphi_{\text{ON-OFF}}$	$\varphi_{\text{OFF-ON}}$	Sammel	Aussch.	# Gesamt
MV3-Zellen (25 dBm)							
200 Hz	0,45	0,40	0,10	0,05	100 %	100 %	175
400 Hz	0,60	0,20	0,08	0,12	100 %	100 %	90
400 Hz	0,30	0,44	0,08	0,18	100 %	100 %	91
1000 Hz	(0,50)	(0,50)	–	–	78 %	81 %	149
2000 Hz	(0,60)	(0,40)	–	–	76 %	69 %	315
Mäusefibroblasten (33 dBm)							
2000 Hz	0,28	0,56	0,04	0,12	100 %	100 %	179
4000 Hz	(0,60)	(0,40)	–	–	79 %	64 %	87
HaCat Zellen (28 dBm)							
1000 Hz	0,08	0,07	0,33	0,42	100 %	100 %	136
2000 Hz	(0,67)	(0,33)	–	–	76 %	57 %	208

Tabelle 4.1: Ablenkeffizienz und Länge der Sortierphasen, abhängig von Zelltyp und Modulationsfrequenz der SAW. Bei niedrigen Frequenzen betrug die Effizienz 100% – alle Zellen in den angegebenen Intervallen φ_{Sammel} und $\varphi_{\text{Aussch.}}$ wurden in den entsprechenden Auslass geleitet, nur während der Intervalle $\varphi_{\text{ON-OFF}}$ und $\varphi_{\text{OFF-ON}}$ wurden Zellen in beide Auslässe abgelenkt. Oberhalb einer kritischen Frequenz konnten keine Intervalle definiert werden, innerhalb derer perfekte Ablenkung stattfand. Stattdessen wurde die Periode in zwei Phasen φ_{Sammel} und $\varphi_{\text{Aussch.}}$ aufgeteilt (Werte in Klammern) und für diese die Ablenkeffizienz, d. h. der Anteil korrekt abgelenkter Zellen gemessen. Die höchste Modulationsrate, bei der 100 % Ablenkeffizienz auftrat, war 2 kHz bei Mäusefibroblasten.

Viabilität der Zellen

Die Zellen wurden nach der Sortierung einem Viabilitätstest unterzogen. Dazu wurde 5 mg/ml Calcein-AM in Dimethylsulfoxid (DMSO) gelöst und 2 μl zu

1 ml Zellsuspension zugegeben. Calcein reichert sich in Zellen mit intakten Zellwänden an und lässt sich im Fluoreszenzmikroskop detektieren. Bei toten Zellen hingegen werden die Zellwände durchlässig und das Calcein diffundiert aus der Zelle.

Die abgelenkten Zellen wurden angefärbt und mit einer gefärbten Kontrollprobe verglichen, die den Sortierkanal nicht passiert hatte. Dabei wurden 93 % lebende Zellen in der abgelenkten Probe und 97 % in der Kontrollprobe gezählt. Dies zeigt, dass die Scherkräfte im Sortierer sowie die geringen elektrischen Felder durch die SAW die Zellen nicht nennenswert beeinträchtigen.

4.5.4 Fazit

Im vorliegenden Abschnitt habe ich gezeigt, dass sich der SAW-getriebene Sortierer zum elektrisch gesteuerten Ablenken von verschiedenen Arten von Zellen eignet. Die Experimente lassen auf maximal erzielbare Ablenkraten von mehreren 1000 Zellen pro Sekunde schließen. Außerdem konnte ich zeigen, dass die Zellen den Ablenkvorgang unbeschadet überstehen.

4.6 Fluoreszenzaktivierte SAW-Sortierung von Zellen

Um Zellen tatsächlich nach Fluoreszenzintensität zu sortieren, wird der im vorherigen Abschnitt beschriebene Sortierer um den in Abschnitt 4.2.3 gezeigten optischen Aufbau sowie die in Abschnitt 4.2.4 beschriebene Steuerungseinheit erweitert. Als Modellsystem werden B16F10-Zellen verwendet, die zunächst wie in Abschnitt 4.5.3 beschrieben mit dem Lebendfarbstoff Calcein-AM angefärbt werden. Da der Farbstoff sich je nach metabolischer Aktivität der Zellen unterschiedlich stark anreichert, erhält man eine breite Verteilung der Fluoreszenzintensität verschiedener Zellen. Anschließend werden die Zellen gewaschen, mit Hilfe eines Zellsiebs vereinzelt und in einer isoosmolaren PBS-Lösung suspendiert, deren Dichte wie in Abschnitt 4.5.1 beschrieben mit Optiprep angepasst wird. Die Zellkonzentration wird auf $3 \cdot 10^6$ Zellen/ μl eingestellt. Die Mischung wird anschließend in eine Spritze gefüllt, die mit dem Probeneinlass des Sortierers verbunden wird.

4.6.1 Sortierparameter

Die Zellsuspension wird mit einer Flussrate von 160 $\mu\text{l}/\text{h}$ in den Probeneinlass gepumpt, was bei der gegebenen Konzentration einer Rate von ca. 230 Zellen/s entspricht. Die Flussrate für die Seitenkanäle beträgt 2100 $\mu\text{l}/\text{h}$ im oberen und 1400 $\mu\text{l}/\text{h}$ im unteren Seitenkanal.

Der Schwellwert für die gemessene Fluoreszenzintensität, ab der die Zellen sortiert werden sollten, ist so gewählt, dass ca. die Hälfte der Zellen oberhalb des Schwellwerts liegen.

Der IDT wird bei einer Frequenz von 162,7 MHz und mit einer Leistung von 27dBm betrieben, der Einstrahlbereich der SAW liegt damit 50 μm vor der Trennnase (vgl. Abschn. 4.2.2 zur Kanalgeometrie).

Im Steuerprogramm wird ein Sortierpuls der Dauer $t_p = 1$ ms vorgegeben, wobei keine Verzögerung ($t_d = 0$) zwischen Detektion und Einschalten der SAW eingestellt wird.

Der Sortiervorgang wird mit der Hochgeschwindigkeitskamera bei einer Bildrate von 10 000 Bildern pro Sekunde aufgezeichnet und anschließend das aufgezeichnete Video ausgewertet, um Fehlsortierungen zu messen und die Zellrate sowie die Sortiereffizienz zu bestimmen.

4.6.2 Experimentelle Beobachtung und Diskussion

Abbildung 4.9 zeigt links beispielhaft die Sortierung zweier unterschiedlich stark gefärbter Zellen in die beiden Auslässe des Sortierers in Abhängigkeit der am Laserspot gemessene Fluoreszenzintensität.

Für die quantitative Auswertung wird ein Videoausschnitt mit 1,7 s Länge ausgewertet. Dabei durchlaufen insgesamt 176 einzelne Zellen den Sortierer, was einer Rate von 103 Zellen/s entspricht.

Dazu kommen 29 Zellen, die Agglomerate von meist 2 Zellen bilden und deswegen nicht einzeln sortiert werden können. Die Bildung von Agglomeraten wird durch den Einsatz des Zellsiebes und die Verwendung von PBS-Lösung ohne Calcium- und Magnesiumchlorid zwar stark verringert, eine komplette Vereinzelung ist jedoch nicht möglich, da ein Teil der Zellen stets im Teilungsstadium ist. Durch eine Vorsortierung mit Hilfe von hydrodynamischen Auftriebskräften könnte man diese Zellen jedoch aussondern[36]. Im Folgenden werde nur die vereinzelten Zellen betrachtet.

Durch die Flussfokussierung wird der Jet der Zellsuspension auf eine Breite von 10 μm eingeengt. Unter Berücksichtigung der eingestellten Flussrate und der Kanalhöhe erwartet man eine mittlere Flussgeschwindigkeit von ca. 90 mm/sec. Die tatsächliche Geschwindigkeit der Zellen liegt höher bei ca. 140 mm/sec, was sich darauf zurückführen lässt, dass die Zellen durch hydrodynamische Kräfte in die Kanalmitte getrieben werden[46], wo die Flussgeschwindigkeit aufgrund des Poiseuille-Flussprofils höher ist.

In der sortierten Probe liegt das detektierte Fluoreszenzsignal von 40 % der Zellen über dem festgelegten Schwellwert für die Sortierung (Positiv-Population).

Da Zellen im Einlass zufällig verteilt sind, ist die Position der Zellen in der Lösung unabhängig voneinander. Zwar beträgt der mittlere zeitliche Abstand der Zellen $\Delta t = 10$ ms, es kommen aber auch deutlich geringere Abstände vor, was zu Fehlsortierungen führen kann:

1. In 9 % der Fälle folgen die Zellen so schnell aufeinander, dass sich deren Fluoreszenzsignal überschneidet und vom Sortieralgorithmus als eine einzelne Zelle erkannt wird, oder der SAW-Ablenkungspuls beide Zellen

zusammen erfasst ($\Delta t < 0,3\text{ms}$). Falls beide Zellen über dem Schwellwert liegen, oder beide darunter, werden die Zellen trotz des geringen Abstands in den korrekten Auslass sortiert. Nur der Fall, dass beide Zellen unterschiedlichen Populationen angehören, führt zu einer falsch-positiven Sortierung, da der von der positiven Zelle ausgelöste Sortierpuls die negative Zelle mit ablenkt. Daraus resultiert eine Fehlerrate von 3 % falsch-positiven Sortierungen.

2. In 20 % der Fälle folgt eine zweite Zelle in einem Abstand von $0,7\text{ ms} < \Delta t < 2,2\text{ ms}$. Falls die vorangegangene Zelle einen Sortierimpuls auslöst, so wird die zweite Zelle durch den in Abschn. 4.4 beschriebene Effekt leicht in die Gegenrichtung, also nach unten abgelenkt. Dies führt für den Fall, dass beide Zellen zur Positiv-Population zählen dazu, dass die zweite Zelle durch den zweiten Sortierpuls nicht mehr weit genug nach oben abgelenkt werden kann, und damit in 5 % der Fälle zu einer falsch-negativen Sortierung.

Letztendlich ergibt sich im positiven Auslass eine Anreicherung der positiven Population von 40 % auf 95 % und im negativen Auslass eine Reduzierung auf 9 %.

Die falsch-negative Sortierung im zweiten Fall ließe sich durch eine verbesserte Steuerung des Sortierers vermeiden: folgen zwei Zellen mit entsprechendem Abstand aufeinander, müsste man nur die Amplitude der SAW (und damit die Ablenkung nach oben) entsprechend erhöhen, um die vorangegangene Ablenkung nach unten auszugleichen. Diese Erhöhung der Amplitude muss jedoch selektiv nur für diesen Fall erfolgen – würde man die Amplitude in jedem Fall erhöhen, würde auch die Ablenkung nach unten entsprechend größer, und die beiden Effekte würden sich kompensieren.

Die falsch-positive Sortierung im ersten Fall ist in der Poissonverteilung der Zellen begründet. Er tritt prinzipbedingt auch bei FACS-Sortierern auf. Dieser Sortierfehler lässt sich zum einen durch eine Verringerung der Zellrate verringern, da damit die Wahrscheinlichkeit für kurze Abstände entsprechend sinkt. Aufgrund der zufälligen Verteilung lassen sich entsprechend geringe Abstände aber nie sicher ausschließen, und eine Verringerung der Zellrate setzt natürlich auch die Sortiergeschwindigkeit entsprechend herab.

Eine alternative Lösung, um die falsch-positive Sortierung zu verhindern, ist das Aufreihen der zu sortierenden Objekte mit gleichem Abstand. Eine Möglichkeit bietet das Ausnutzen von hydrodynamischen Effekten wie dem Dean-Fluss[47]. Eine weitere Möglichkeit ist es, die Objekte durch eine Erhöhung der Konzentration im Einlass Stoß-auf-Stoß anzuordnen. Dies zeige ich im Folgenden bei der Sortierung von Tropfenemulsionen.

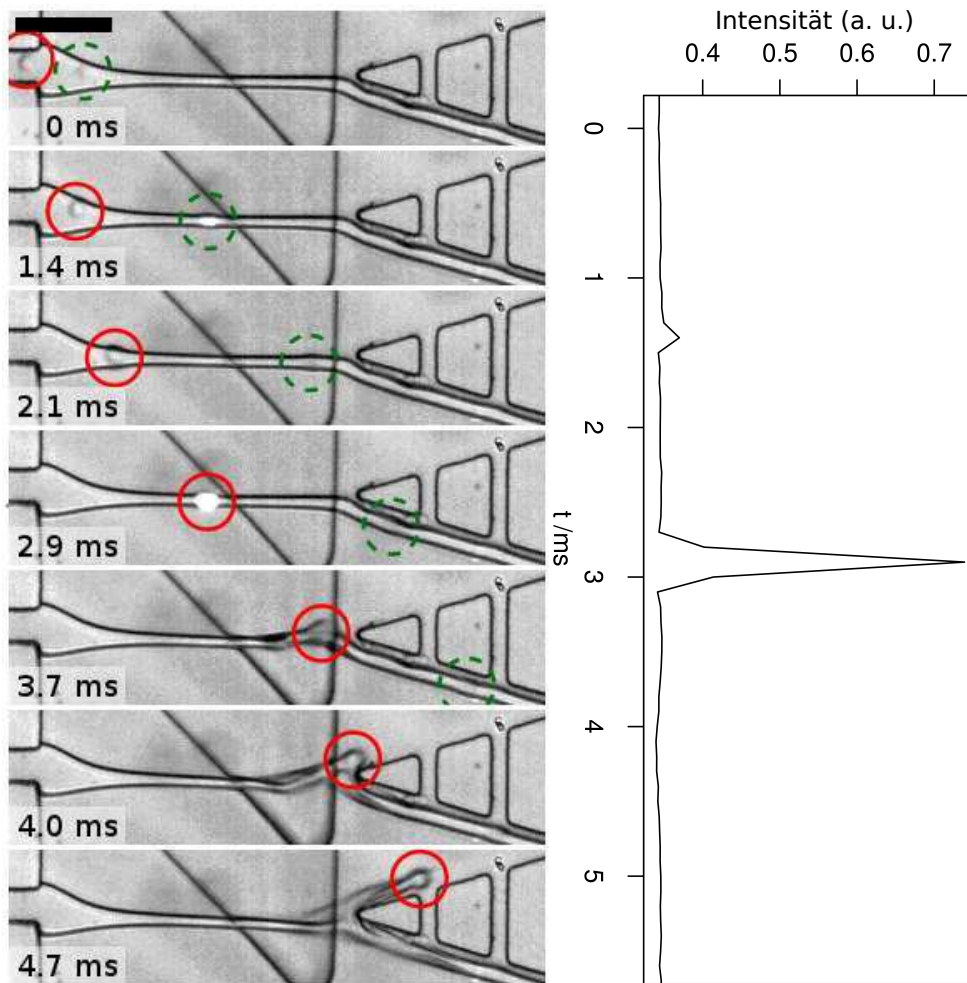


Abbildung 4.9: **(Links)** Sortierung von zwei B16F10 Zellen nach Fluoreszenzintensität. Die Fluoreszenzintensität der ersten Zelle (grün gestrichelt) ist unterhalb der Sortierschwelle, sie wird unabgelenkt in den unteren Auslass gespült. Bei der zweiten Zelle (rot umrandet) wird ein Sortierimpuls ausgelöst, die SAW lenkt den Flüssigkeitsjet und die darin suspendierte Zelle in den oberen Auslass um. Der Abstand der beiden Zellen beträgt 1,4 ms. **(Rechts)** Fluoreszenzintensität der beiden sortierten Zellen beim Durchgang durch den Laser-spot.

4.7 Fluoreszenzaktivierte Sortierung von Tropfenemulsionen

Mikrotropfenemulsionen stellen ein wichtiges Werkzeug in der Mikrofluidik dar. Tropfen mit Volumina im Pikoliter-Bereich dienen beispielsweise zum Inkubieren von einzelnen Zellen oder Bakterien. Auf diese Weise wird es möglich, den Stoffwechsel dieser Mikroorganismen nicht nur im Ensemble, sondern auf der Ebene einzelner Individuen zu untersuchen.

Die Sortierung solcher Tropfenemulsionen eröffnet neue Möglichkeiten: in der sogenannten gesteuerten Evolution werden Mikroorganismen gezielt mit Zufallsmutationen versehen, um von ihnen produzierte Enzyme zu optimieren. In einem Selektionsschritt werden anschließend diejenigen Individuen mit den gewünschten Eigenschaften aussortiert.[8]

Im Folgenden werde ich zeigen, dass sich der hier vorgestellte Sortierer auch zum Sortieren solcher Tropfenemulsionen eignet.

4.7.1 Sortierung in 2 Populationen

Zunächst wird eine Probe bestehend aus zwei verschiedenen Tropfenpopulationen sortiert. Die Mischung wird wie in Abschn. 4.2.5 beschrieben präpariert und anschließend in eine Spritze gefüllt und mit dem Probeneinlass des Sortierers verbunden. Zwei weitere mit HFE7500 gefüllte Spritzen werden mit den Einlassreservoirs der Seitenkanäle verbunden, um eine Flussfokussierung zu erreichen.

Sortierparameter

Die Flussraten des Probeneinlasses bestimmt die Sortierrate, und beträgt bis zu 100 $\mu\text{l/h}$. Die Flussrate der Seitenkanäle sorgen für die Flussfokussierung und liegt jeweils bei bis zu 3000 $\mu\text{l/h}$.

Durch die starke Fluoreszenzintensität der eingefärbten Tropfen ist am Fluoreszenzdetektor ein Signal mit einer Amplitude von mehreren Volt zu erkennen, das sich deutlich vom Hintergrundrauschen abhebt. Die schwarz eingefärbten Tropfen erzeugen kein messbares Fluoreszenzsignal, so dass ein eingestellter Schwellwert in Höhe der halben Signalamplitude die Tropfen problemlos unterscheiden kann.

Der IDT wird bei einer Frequenz von 162 MHz und mit einer Leistung von 15 dBm betrieben, der Einstrahlbereich der SAW liegt damit ca. 200 μm vor der Trennnase (vgl. Abschn. 4.2.2 zur Kanalgeometrie).

Im Steuerprogramm wird ein Sortierpuls der Dauer $t_p = 0,2$ ms vorgegeben, wobei keine Verzögerung ($t_d = 0$) zwischen Detektion und Einschalten der SAW eingestellt wird.

Der Sortiervorgang wird mit der Hochgeschwindigkeitskamera bei einer Bildrate von 10 000 Bildern pro Sekunde aufgezeichnet und anschließend das aufge-

zeichnete Video ausgewertet, um Fehlsortierungen zu messen und die Zellrate sowie die Sortiereffizienz zu bestimmen.

Experimentelle Beobachtung und Diskussion

Bis zu Sortierraten von 3000 Tropfen/s werden alle Tropfen korrekt erkannt und in den richtigen Auslass sortiert, Fehlsortierungen kommen nicht vor. Durch die Aufreihung im Proben-Einlasskanal lässt sich ein konstanter Abstand der aufeinander folgenden Tropfen einstellen, was das in Abschn. 4.6.2 beschriebene Problem der Fehlsortierung aufgrund der Poissonverteilung löst.

Um höhere Sortierraten einzustellen, muss die Flussrate im Probeneinlass erhöht werden. Die damit verbundenen hohen Scherraten führen jedoch dazu, dass aufeinander folgende Tropfenpaare am Übergang vom Tropfeneinlass zum Sortierer fusionieren. Dies ließe sich zwar durch eine entsprechende Verbreiterung des Einlasskanals verhindern, allerdings würde in einem breiteren Einlasskanal die Aufreihung der Tropfen nicht mehr funktionieren. Durch die Anpassung der Geometrie des Sortierers ließe sich die Fusion vermutlich unterdrücken, um noch höhere Sortiergeschwindigkeiten zu erreichen.

Betrachtet man die Trajektorie des sortierten Tropfens (Abb. 4.10), so fällt auf, dass diese genau entlang der Kante der PDMS-Stütze verläuft. Offensichtlich beruht die Ablenkraft hier nicht hauptsächlich auf akustischem Streaming. Stattdessen spielt offenbar der *akustische Strahlungsdruck* die Hauptrolle, der die Tropfen entlang des Gradienten der akustischen Intensität ablenkt. Die Intensität ist offenbar auf der PDMS-Stütze am höchsten und fällt außerhalb stark ab. Durch diesen Effekt wirkt die Ablenkung nicht nur in Richtung der Streaming-Kraft. Dies nutze ich im Folgenden, um Tropfen durch geschickte Anordnung von zwei PDMS-Stützen mit nur einem einzigen IDT wahlweise in zwei entgegengesetzte Richtungen abzulenken.

4.7.2 Dreifachsortierer

Sollen Tropfemulsionen in mehr als zwei Populationen sortiert werden, so lässt sich dies im einfachsten Fall natürlich durch mehrere aufeinander folgende Sortiervorgänge erreichen. Zur Vereinfachung des experimentellen Aufwands und um Zeit zu sparen, ist es jedoch wünschenswert, derartige iterative Sortierungen zu vermeiden. Dazu stelle ich im folgenden einen Dreifachsortierer vor, der Tropfen in drei verschiedene Populationen sortieren kann.

Modifikation des Aufbaus

Dazu wird die Geometrie des Mikrokanals verändert, um einen dritten Auslass zu schaffen. Außerdem werden anstatt einer einzigen PDMS-Stütze zwei gestaffelte Stützen verwendet. Durch Modulation der HF-Frequenz lässt sich der Pfad der SAW so einstellen, dass sie nur eine der beiden Stützen trifft und nur dort in den Mikrokanal einkoppelt.

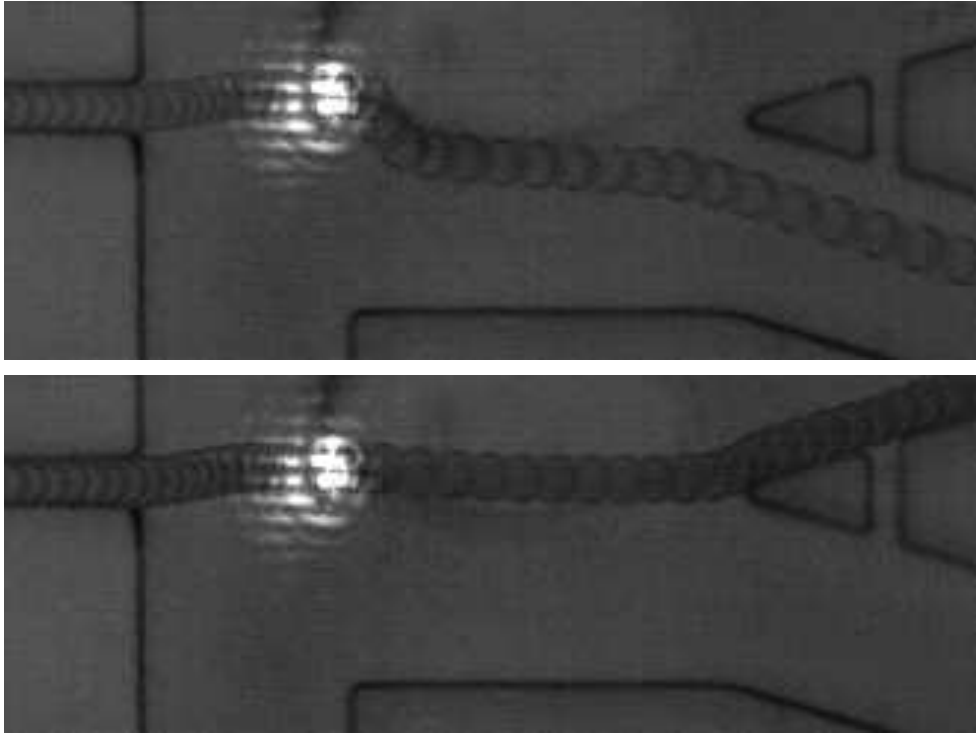


Abbildung 4.10: **(oben)** Der Overlay mehrerer aufeinander folgender Aufnahmen zeigt die Trajektorie eines abgelenkten Tropfens. Unmittelbar nach der Detektion bei der Durchquerung des Laserspots wird der Tropfen durch die aktivierte SAW nach unten abgelenkt und fließt schließlich in den unteren Auslasskanal, der zum Sammelreservoir führt. Die Trajektorie führt genau entlang der Kante der PDMS-Stütze, an der die SAW einkoppelt. **(unten)** Die Trajektorie des dunklen Tropfens folgt, bei abgeschalteter SAW, dem Poiseuille-Fluss und führt den Tropfen ins obere Ausschussreservoir.

Die Sortiersoftware wird so modifiziert, dass sie zwei verschiedene Populationen von fluoreszierenden Tropfen unterscheidet. Bei der Detektion eines Tropfens wird dann abhängig davon, zu welcher der beiden Populationen er gehört, jeweils sowohl ein Pulsmodulationssignal ausgegeben, als auch ein Frequenzmodulationssignal, das die SAW auf eine der beiden Stützen ausrichtet.

Experimentelle Beobachtung und Diskussion

Die fehlerfreie Sortierung in drei Auslässe ist bei Tropfenraten bis zu 300 s^{-1} fehlerfrei möglich. Die deutlich verringerte Sortierrate im Vergleich zum Zweifach-Sortierer ist auf zwei Ursachen zurückzuführen:

Zum einen müssen die Tropfen zumindest in eine Richtung deutlich weiter verschoben werden. Werden die Tropfen im Zweifachsortierer mit Hilfe des Hüllflusses nahe genug an der Trennnase positioniert, so genügt eine SAW-Verschiebung um einen Tropfendurchmesser, um die Tropfen auf die andere Seite zu spülen. Beim Dreifachsortierer müssen die Tropfen zusätzlich um die gesamte Breite des mittleren Auslasskanals verschoben werden, und diese muss größer als ein Tropfendurchmesser sein. Bei gleicher SAW-Leistung muss daher die Flussgeschwindigkeit und damit die Rate entsprechend verringert werden.

Zum zweiten ist die Ablenkung der Tropfen entgegen der Ausbreitungsrichtung der SAW deutlich schwächer als in Ausbreitungsrichtung. Offenbar wirken dem akustische Strahlungsdruck, der am Rand der PDMS-Stütze den Tropfen entgegen der SAW-Ausbreitungsrichtung verschiebt, akustische Streaming-Kräfte entgegen. Dies verringert die effektive Kraft auf den Tropfen, was die maximal mögliche Flussrate ebenfalls verringert. Dies ließe sich durch die Verwendung eines zweiten IDTs auf der anderen Seite des Sortierkanals lösen, der die Tropfen entlang der SAW-Ausbreitungsrichtung effektiver ablenken könnte.

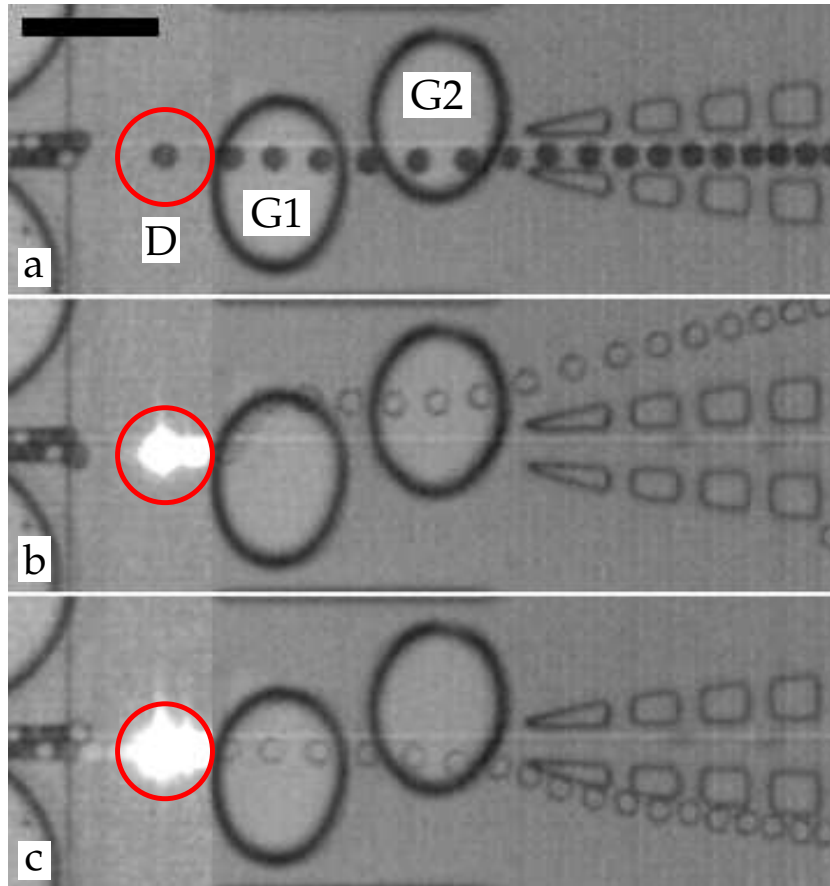


Abbildung 4.11: Aufbau des Dreifachsortierers: Dem in Abschn. 4.2.2 beschriebene Mikrokanal wird ein dritter mittlerer Auslass hinzugefügt. Anstelle einer einzigen PDMS-Stütze werden zwei kleinere Stützen *G1*, *G2* eingesetzt, die jeweils gegenüber der Mittellachse nach oben bzw. unten verschoben sind. **(oben)** Der Overlay mehrerer aufeinander folgender Aufnahmen zeigt die Trajektorie eines nicht fluoreszierenden Tropfens, der ohne SAW-Ablenkung in den mittleren Auslass gespült wird. **(mitte)** Für Tropfen einer mittleren Fluoreszenzintensität wird die SAW in die Stütze *G1* eingekoppelt. Der Tropfen wird analog zum Zweifachsortierer entlang der Kante der PDMS-Stütze nach oben abgelenkt und fließt schließlich in den oberen Auslass. **(unten)** Tropfen mit hoher Fluoreszenzintensität werden nach unten abgelenkt, indem die SAW in die Stütze *G2* eingekoppelt wird. Zwar ist die Ausbreitungsrichtung der SAW hier nach oben, allerdings wird der Tropfen entlang der Kante der PDMS-Stütze leicht nach unten abgelenkt. Die Ablenkung beträgt in diese Richtung nur ca. einen Tropfenradius (ca. 15 μm), reicht aber aus, um den Tropfen in den unteren Auslass zu verschieben.

4.8 Zusammenfassung und Ausblick

In diesem Kapitel habe ich einen SAW-getriebenen mikrofluidischen Sortierer vorgestellt und seine Eignung für die Sortierung von in wässrigem Medium suspendierten Zellen und auch von Mikroemulsionstropfen gezeigt. Außerdem habe ich Messungen des Flussfeldes im Sortierer vorgenommen und die Ergebnisse mit Computersimulationen verglichen. Die gute Übereinstimmung zwischen Simulation und Experiment zeigt, dass der Hauptwirkmechanismus des Sortierers die Aktuation der Flüssigkeit durch akustisches Streaming ist, und damit unabhängig von den physikalischen Eigenschaften der zu sortierenden Objekte ist. Für die Tropfensortierung habe ich Sortierraten von bis zu 3000 Tropfen pro Sekunde demonstriert, bei fehlerfreier Sortierung. Außerdem habe ich erfolgreich eine Erweiterung des Designs entwickelt, die eine Sortierung in drei getrennte Populationen ermöglicht.

Aufgrund des Wirkmechanismus – die akustische Aktuation der Flüssigkeit, nicht der Objekte direkt – ist der Sortierer vielseitig einsetzbar. Außer den von mir untersuchten Zellen und Mikroemulsionstropfen könnte der Sortierer auch für suspendierte Nanopartikel oder Vesikel eingesetzt werden. Auch die Sortierung von fluoreszenzmarkierten DNA-Molekülen ist möglich.

Eine weitere erfolgversprechende Anwendung ist Directed Evolution. Hierbei werden von Bakterien exprimierte Proteine optimiert mit einem Verfahren, das ähnlich der natürlichen Evolution durch Mutation und Selektion erfolgt. Im Unterschied zur natürlichen Selektion, bei der diejenigen Individuen sich durchsetzen, die an die Umweltbedingungen am besten angepasst sind, wird bei der Directed Evolution ein künstlicher Selektionsdruck erzeugt, indem aus den mutierten Bakterien diejenigen ausgewählt werden, deren Proteine die gewünschten Eigenschaften haben. Aufgrund der riesigen Zahl an möglichen Mutationen und der geringen Anzahl an „vorteilhaften“ Mutationen ist eine schnelle Sortiermethode erforderlich. Der von mir entwickelte Sortierer hat das Potential, diese Verfahren deutlich zu vereinfachen und zu beschleunigen.

5 SAW-modulierte mikrofluidische Herstellung von Tropfenemulsionen

Zuerst müssen wir bemerken, dass die Welt kugelförmig ist, theils weil diese Form, als die vollendete, keiner Fuge bedürftige Ganzheit, die vollkommenste von allen ist, theils weil sie die geräumigste Form bildet, welche am meisten dazu geeignet ist, Alles zu enthalten und zu bewahren; [...] oder [auch] weil Alles dahin strebt, sich in dieser Form zu begrenzen, was an den Tropfen des Wassers und an den übrigen flüssigen Körpern zur Erscheinung kommt, wenn sie sich aus sich selbst zu begrenzen streben.

— Nikolaus Kopernikus,
Über die Kreisbewegungen der Weltkörper [48]

In diesem Kapitel wende ich die SAW auf tropfenbasierte Mikrofluidik an. Ich benutze akustisches Streaming, um in Echtzeit Tropfengrößen einzustellen und einen flexiblen, in Echtzeit schaltbaren Tropfengenerator zu entwickeln. Der Mechanismus der SAW-Aktuation wird experimentell quantifiziert und theoretisch beschrieben. Schließlich untersuche ich ein instabiles Regime des Tropfengenerators.

Dieses Kapitel basiert auf meinen Veröffentlichungen *SAW-controlled drop size for flow focusing*[77], *Acoustic modulation of droplet size in a T-junction*[78], sowie *Real-time size modulation and synchronization of a microfluidic dropmaker with pulsed SAW*[79].

5.1 Einleitung

Tropfenemulsionen stellen einen wichtigen Baustein für mikrofluidische Lab-on-a-Chip-Systeme dar. Sie dienen zur Lagerung von Reaktanden oder zur Inkubation von Proben wie z. B. Zellen[49, 26] oder Bakterien[87] sowie als abgeschlossene Reaktionsgefäße und Templates für die Polymerisation von unterschiedlichsten Mikroobjekten[87, 108, 85].

Emulsionen lassen sich auf mechanische Weise durch einfaches Rühren herstellen. Die Scherkräfte in der Flüssigkeit verformen dabei größere Tropfen und brechen diese auf[97]. Auch Mikroemulsionen können auf diese Weise erzeugt

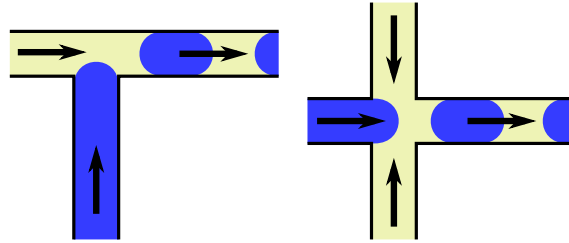


Abbildung 5.1: Geometrie von planaren Mikrokanälen zur Herstellung von Mikroemulsionen. Die dispergierte (innere) Flüssigkeit ist jeweils in blau dargestellt, die kontinuierliche Flüssigkeit in beige. Die Pfeile zeigen die Flussrichtung an. **(links) T-Junction:** hier wird die dispergierte Flüssigkeit seitlich in den Hauptkanal mit der kontinuierlichen Flüssigkeit zugegeben. **(rechts) Flow-Focusing:** Die dispergierte Flüssigkeit wird von zwei Seiten durch die seitlich zugeführte kontinuierliche Flüssigkeit eingeengt.

werden, teilweise wird auch Ultraschall verwendet, um geringere Tropfengrößen zu erreichen. Allerdings führen diese Methoden zu einer großen Streuung der Tropfengrößen, die bei vielen mikrofluidischen Anwendungen unerwünscht ist. Verwendet man Tropfen beispielsweise als Reaktionsgefäße und führt Reaktanden durch Verschmelzen mit anderen Tropfen zu, so müssen die Tropfenvolumina exakt eingestellt werden, um die richtigen Konzentrationen einstellen zu können. Auch bei der Verwendung von Tropfen als Template zur Herstellung von Mikro- und Nanopartikeln wird über die Tropfengröße die Größe der produzierten Partikel bestimmt.

Für die Herstellung von monodispersen Tropfenemulsionen wurden planare Mikrokanäle entwickelt, in denen die zwei Phasen zusammengeführt werden und Tropfen bilden. Hierbei kommen zwei verschiedene Geometrien zur Anwendung: *T-Junction*[99, 15, 33] und *Flow-focusing*[9, 34], dargestellt in Abb. 5.1.

Die Tropfengröße liegt typischerweise in der Größenordnung der Kanalbreite und lässt sich durch die Flussraten einstellen[99, 33]. Die Kanäle werden in der Regel mit Spritzenpumpen betrieben werden, die, wie in Abs. 3.1.1 beschrieben, bei Flussratenänderungen zu Relaxationszeiten von mehreren Minuten führen.[94, 95] Dies erschwert eine schnelle Modulation der Tropfengröße. Auch wenn der Tropfengenerator Teil eines integrierten Fluidiksystems ist, ist die Steuerung der Tropfengröße durch Flussratenänderung ungeeignet, da dies Auswirkungen auf die anderen Komponenten des Systems hätte.

Verschiedene Methoden wurden entwickelt, um die Tropfengröße in Echtzeit modulieren zu können: Verwendet man Ferrofluide als dispergierte Phase, so kann die Tropfengröße mit Hilfe eines Magnetfelds eingestellt werden[96, 56]. Auch kann man die Flüssigkeiten im Kanal durch kleine Heizelemente lokal er-

wärmen, was die Grenzflächenspannung herabsetzt und dadurch die Tropfengröße ändert[66, 93]. Diese Techniken erfordern allerdings den Einsatz spezifischer Flüssigkeiten und sind deshalb auf das jeweilige System beschränkt. Eine andere Technik ist die Verwendung von pneumatisch angetriebenen Ventilen, die den Kanal verengen und damit die Geometrie des Tropfengenerators ändern, um die Tropfengröße zu modulieren[6]. Dies ermöglicht die Verwendung beliebiger Flüssigkeiten, erfordert aber ein aufwändiges pneumatisches Steuerungssystem. Im Gegensatz dazu sind SAW-Aktuatoren elektrisch gesteuert und lassen sich somit einfach in ein mikrofluidisches System integrieren.

Im Folgenden werde ich zeigen, wie sich mit SAWs Tropfengrößen im Mikrokanal mit hoher Geschwindigkeit modulieren lassen.

5.2 Theoretische Grundlagen

Zwei verschiedene physikalische Regime können bei der Tropfenerzeugung in mikrofluidischen Kanälen auftreten, je nachdem, ob die Oberflächenspannung oder die viskosen Kräfte dominieren [3, 33, 20]: Deren Verhältnis wird durch die Kapillarzahl $Ca = \eta u / \sigma$ angegeben, die von der dynamischen Viskosität η , der charakteristischen Flussgeschwindigkeit u und der Grenzflächenspannung σ zwischen den beiden Flüssigkeiten abhängt. Bei kleiner Kapillarzahl wird die Form des sich bildenden Tropfens durch die Grenzflächenenergie bestimmt - sie wird minimal, wenn der Tropfen den Kanal weitgehend ausfüllt. Dadurch steigt der Druck in der kontinuierlichen Phase oberhalb des Tropfens, was zur dessen Abschnürung von der dispergierten Phase führt, man spricht vom *Squeezing Regime*. Bei größerer Kapillarzahl hingegen wird die Grenzfläche durch die Scherspannung deformiert und dadurch Tropfen abgesichert; das System ist im *Dripping Regime*. Die Grenze zwischen den beiden Regimen verläuft bei ca. $Ca = 0,01$. Allerdings spielt in einem Übergangsbereich sowohl Scher- als auch Grenzflächenspannung eine Rolle.

Der physikalische Mechanismus der Tropfenerzeugung in beiden Geometrien ist sehr ähnlich[3], weshalb ich ihn im folgenden anhand der T-Junction erkläre.

Die in mehreren Stufen ablaufende Dynamik des Squeezing Regimes im T-Kanal wurde von Garstecki et al.[33] beschrieben (siehe auch Abb. 5.2 links): (I) Zunächst wird die dispergierte Flüssigkeit in den Hauptkanal hineingedrückt und (II) füllt nach kurzer Zeit den Hauptkanal fast komplett aus, um dann (III) stromabwärts weiterzufließen. Während sich der Flüssigkeitschlauch stromabwärts verlängert, ist er immer noch mit dem Zulauf der dispergierten Flüssigkeit verbunden. Da die kontinuierliche Flüssigkeit durch den verengten Kanal nicht mehr abfließen kann, drückt das nachfließende Volumen gegen den Flüssigkeitsschlauch, der infolgedessen direkt an der T-Kreuzung eine Einschnürung ausbildet, deren Breite d immer weiter abnimmt. (IV) Schließlich schnürt sich der Tropfen vollständig ab und fließt in den Ablaufka-

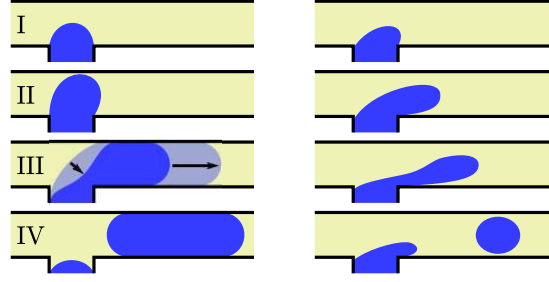


Abbildung 5.2: (links) Schematischer Ablauf des *Squeezing Regimes*: der Tropfen füllt zunächst den Kanal vollständig aus. Während die Tropfengröße durch Zufluss der dispergierten Phase weiter anwächst, kann die kontinuierliche Phase nicht mehr in den Auslasskanal abfließen und schnürt deshalb den Tropfen ab. (rechts) Im *Dripping Regime* hingegen füllt der Tropfen den Kanal nicht vollständig aus. Der Tropfenablösung erfolgt hier durch hydrodynamische Scherkräfte, die auf die Grenzfläche wirken. Typischerweise erfolgt hier die Abschnürung im Vergleich zum Squeezing Regime weiter stromabwärts.

nal, während die neugebildete Spitze der dispergierten Flüssigkeit zunächst in den Zulauf zurückgedrückt wird. Anschließend beginnt der Zyklus von neuem.

Unter der Annahme, dass die Flussraten Q_c bzw. Q_d der kontinuierlichen bzw. diskontinuierlichen Phase während des Zyklus konstant bleiben, leitet Garstecki daraus die Tropfenlänge ab: am Ende von Stufe II füllt der Tropfen gerade den Hauptkanal aus, damit entspricht seine Länge l der Kanalbreite w . Der Abschnürungsdurchmesser entspricht zunächst der Kanalbreite $d = w$, anschließend (Phase III) verjüngt er sich mit einer Geschwindigkeit u_d , die ungefähr der Flussgeschwindigkeit der kontinuierlichen Phase entspricht $u_d \approx Q_c/hw$, mit Kanalhöhe h . Gleichzeitig verlängert sich der Flüssigkeitsschlauch mit der Geschwindigkeit u_1 , der Flussgeschwindigkeit der dispergierten Phase $u_1 \approx Q_d/hw$. Damit ergibt sich zum Zeitpunkt des Abschnürens eine endgültige normalisierte Tropfenlänge von:

$$l/w = 1 + \alpha Q_d/Q_c \quad (5.1)$$

mit einer geometrieabhängigen Konstante $\alpha \sim 1$. Diese Skalierung und der zugrundeliegende Mechanismus ist auch durch Simulationen[20] und experimentell[33] nachgewiesen.

Im Dripping Regime erfolgt die Tropfenbildung hingegen durch die hydrodynamischen Scherkräfte auf den sich bildenden Tropfen. Die Skalierung der Tropfengröße wurde von Thorsen et al.[99] untersucht. Er berechnet die Trop-

fenggröße r , indem er den Laplacedruck des Tropfens und die Scherspannung gleichsetzt, und erhält:

$$r \propto \sigma / \eta \dot{\gamma} \quad (5.2)$$

in Abhängigkeit von Grenzflächenspannung σ , dynamischer Viskosität der kontinuierlichen Phase η und der Scherrate der kontinuierlichen Phase $\dot{\gamma}$ im Spalt zwischen dem sich bildenden Tropfen und der Kanalwand. Die von ihm gemessenen Tropfengrößen sind in jedoch nur ca. halb so groß wie theoretischen Werte. Der Grund dafür sind Druckeffekte durch den Tropfen, ähnlich wie im Squeezing Regime zum Abschnüren des Tropfens beitragen; die entsprechenden Druckschwankungen wurden in Simulationen[20] und experimentell[5] nachgewiesen. Durch diese geometriebedingten Druckeffekte unterscheidet sich das Dripping Regime im Mikrokanal fundamental vom entsprechenden Prozess in mikropipettenbasierten Systemen[20].

Im Vergleich der Regime fällt auf, dass die Tropfengröße in beiden Fällen von den Flussraten Q_c , Q_d sowie der Kanalgeometrie h , w abhängt (beim Dripping Regime lässt sich die Scherrate über $\dot{\gamma} \sim Q/hw^2$ abschätzen). Im Dripping Regime beeinflussen überdies die spezifischen Eigenschaften des Flüssigkeitssystems – Viskosität und Grenzflächenspannung – die Tropfengröße, während sie im Squeezing Regime keine Rolle spielen.

5.3 Direkte SAW-Aktuation im Flow-Focusing-Tropfengenerator

5.3.1 Versuchsaufbau

Für die Tropfenerzeugung verwende ich eine Flow-Focusing-Geometrie mit quadratischem Kanalquerschnitt $h = w = 30 \mu\text{m}$. Um eine möglichst gut fokussierte SAW zu erzeugen, wird der in Kapitel 2.2.1 beschriebene schräge IDT benutzt, auf dessen beglaste Glasoberfläche der Mikrokanal mit der im Anhang A.1.2 beschriebenen Plasmamethode direkt gebunden wird. Mit Hilfe eines dreiachsigen Mikrometertisches kann der IDT beim Verbinden auf den Kanal ausgerichtet werden. Die exakte Ausrichtung der Einstrahlposition der SAW wird dann im Experiment durch Anpassung der Anregungsfrequenz erreicht. Um eine Dämpfung der Oberflächenwelle durch auf dem IDT aufliegendes PDMS zu verhindern, wird eine entsprechende PDMS-Aussparung strukturiert. Abbildung 5.3 zeigt den Aufbau.

Als kontinuierliche Flüssigkeit wird HFE7500 verwendet, das mit 1 % biokompatiblen PFPE-PEG-Kopolymer versetzt wird, um die Tropfenoberfläche zu stabilisieren.[44] Die kontinuierliche Phase ist eine wässrige Lösung von Bromphenolblau, deren dunkelblaue Farbe einen deutlichen Kontrast der Tropfen zur umgebenden Flüssigkeit erzeugt, um die Detektion der Tropfen und deren automatisierte Auswertung zu erleichtern. Der Fluss wird mit Sprit-

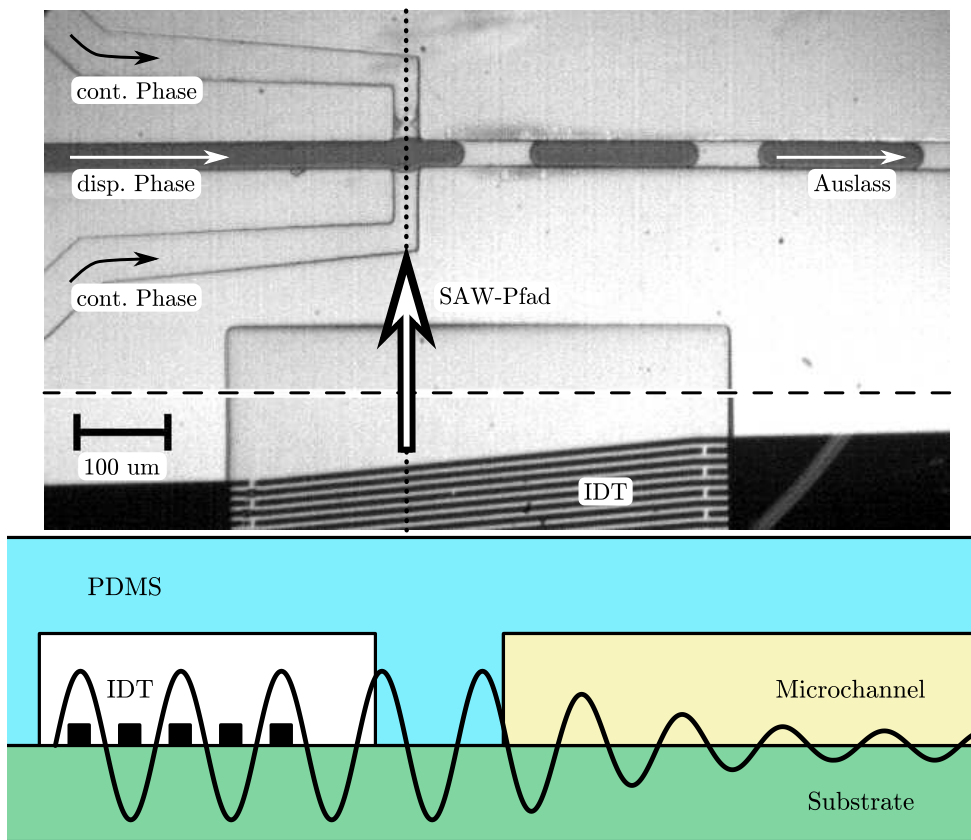


Abbildung 5.3: (oben) Der Tropfenerzeuger in der Draufsicht: Die kontinuierliche und dispergierte Phase werden in der Kanalkreuzung zusammengeführt und bilden dort Tropfen, die in den Ausfluss ablaufen. Die Kanäle haben am Zusammenfluss jeweils einen quadratischen Querschnitt mit $h = w = 30 \mu\text{m}$. Der IDT erzeugt eine SAW, die auf die Kanalkreuzung fokussiert ist. Da der tatsächliche Abstand zwischen IDT und Kreuzung $700 \mu\text{m}$ beträgt, wurde das Bild entlang der gestrichelten Linie gestaucht. (unten) Querschnittsskizze des Kanals entlang der gepunkteten Linie: Der PDMS-Kanal ist direkt auf das LiNbO_3 -Substrat gebunden, wobei oberhalb des IDT eine Aussparung strukturiert ist. Die SAW läuft in den Mikrokanal, wo sie gedämpft wird, und eine Schallwelle in der Flüssigkeit anregt.

zenpumpen angetrieben, die eine konstante Flussrate sicherstellen. Sie beträgt $Q_d = 100 \mu\text{l h}^{-1}$ bei der dispergierten Lösung und $Q_c = 50 \mu\text{l h}^{-1}$ bzw. $Q_c = 100 \mu\text{l h}^{-1}$ bei der kontinuierlichen Lösung. Die Leistung der eingestrahlichten SAW wird zwischen $0 \leq P_{\text{SAW}} \leq 800 \text{ mW}$ variiert. Die Experimente werden mit einer Hochgeschwindigkeitskamera bei einer Bildrate von 5000 s^{-1} aufgenommen. Zur automatisierten Auswertung wird ein Skript für ImageJ¹ entwickelt, das Tropfenlänge und -rate ermittelt.

5.3.2 Ergebnisse

Die Einkopplung von Oberflächenwellen führt zu einer Verringerung der Tropfengrößen, und einer gleichzeitigen Erhöhung der Tropfenrate, entsprechend der eingesetzten Leistung, und abhängig von der Flussrate der kontinuierlichen Phase (die Flussraten $50 \mu\text{l/h}$ und $100 \mu\text{l/h}$ werden im Folgenden als Subscripts angegeben). Während die Tropfenlängen bei abgeschalteter SAW abhängig von der Flussrate der kontinuierlichen Phase bei $l_{50} = 236 \pm 14 \mu\text{m}$ bzw. $l_{100} = 134 \pm 4 \mu\text{m}$ liegt, beträgt sie bei maximaler SAW-Leistung $P_{\text{SAW}} = 800 \text{ mW}$ nur noch $l_{50} = 88 \pm 2 \mu\text{m}$ bzw. $l_{100} = 73 \pm 2 \mu\text{m}$. Die Tropfenrate nimmt mit steigender SAW-Leistung zu; von $f_{50} = 207 \pm 10 \text{ s}^{-1}$ bzw. $f_{100} = 370 \pm 7 \text{ s}^{-1}$ auf $f_{50} = 603 \pm 15 \text{ s}^{-1}$ bzw. $f_{100} = 840 \pm 28 \text{ s}^{-1}$. Abbildung 5.4 zeigt ein solches Experiment und stellt die Tropfenlängen l_{SAW}/l_0 bzw. Tropfenraten f_{SAW}/f_0 in Abhängigkeit von der SAW-Leistung P_{SAW} graphisch dar, jeweils normiert auf die Werte ohne SAW. Die Längenänderung der Tropfen lässt sich in erster Näherung durch ein lineares Modell $l_{\text{SAW}}/l_0 = 1 - mP_{\text{SAW}}$ fit-ten; hier ist der SAW-Einfluss bei geringer Flussrate der dispergierten Phase mit $m_{50} = 0,75 \pm 4 \text{ mW}^{-1}$ deutlich größer als bei geringer Flussrate mit $m_{100} = 0,51 \pm 3 \text{ mW}^{-1}$. Allerdings ergeben sich vor allem bei niedrigen Leistungen deutliche Abweichungen vom linearen Verlauf.

Abbildung 5.5 zeigt die Tropfenbildung im Detail. Wie in Abschnitt 5.2 beschrieben, verläuft die Tropfenbildung in einem Flow-Focusing-Tropfengenerator analog zur Tropfenbildung in einer T-Junction im Squeezing Regime: (I) Zunächst füllt die dispergierte Flüssigkeit die Kanalkreuzung. (II) Schließlich fließt der Flüssigkeitsschlauch in den Auslasskanal und blockiert diesen somit für die kontinuierliche Phase. (III) Während die dispergierte Phase in den Auslasskanal fließt und der Tropfen sich dadurch verlängert, drückt die nachlaufende kontinuierliche Phase den Flüssigkeitsschlauch an der Kreuzung zusammen und bildet eine sich verengende Einschnürung, die schließlich zur (IV) Abschnürung des Tropfens führt, womit der Kreislauf wieder von vorne beginnt.

Unter Einfluss der SAW bildet die Einschnürung, die normalerweise völlig symmetrisch ist, eine deutlich Asymmetrie aus, wobei diese mit steigender SAW-Leistung noch zunimmt. Während sich die Unterseite nach innen wölbt,

¹ImageJ, Wayne Rasband, National Institutes of Health, USA

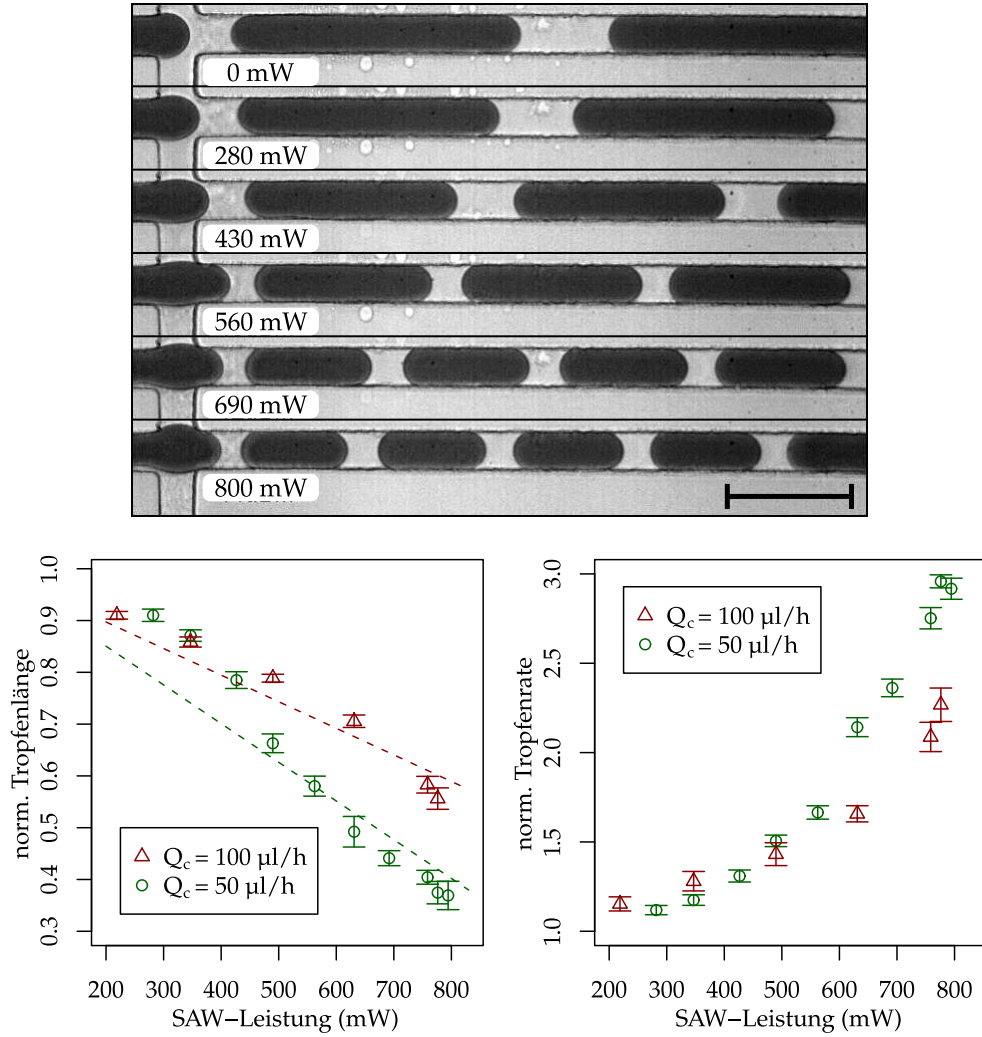


Abbildung 5.4: (oben) Die Länge der Tropfen bei Flussraten von $Q_c = 50 \mu\text{lh}^{-1}$, $Q_d = 100 \mu\text{lh}^{-1}$ verringerte sich mit zunehmender SAW-Leistung von $236 \mu\text{m}$ auf $88 \mu\text{m}$, eine Verringerung auf 37 % des Ausgangswertes. Die Länge des Maßstabs gibt $100 \mu\text{m}$ an. (links) Normalisierte Längen der Tropfen l_{SAW}/l_0 in Abhängigkeit von P_{SAW} . Durch die SAW verringert sich die Tropfengröße auf bis zu 37 % der ursprünglichen Länge ($Q_c = 50 \mu\text{lh}^{-1}$), wobei der Effekt bei höheren Flussraten geringer ausfällt. Die gestrichelten Linien zeigen einen linearen Fit der Form $l_{\text{SAW}}/l_0 = 1 - mP_{\text{SAW}}$, mit Steigung $m_{50} = -0,75 \pm 4 \text{ mW}^{-1}$ bzw. $m_{100} = -0,51 \pm 3 \text{ mW}^{-1}$. (rechts) Normalisierte Tropfenrate f_{SAW}/f_0 in Abhängigkeit von P_{SAW} . Die Tropfenrate steigt mit zunehmender SAW-Leistung um bis 300%, wobei der SAW-Effekt bei niedrigen Flussraten ebenfalls stärker ist als bei hohen. Die Fehlerbalken zeigen jeweils die Standardabweichung der Messwerte an.

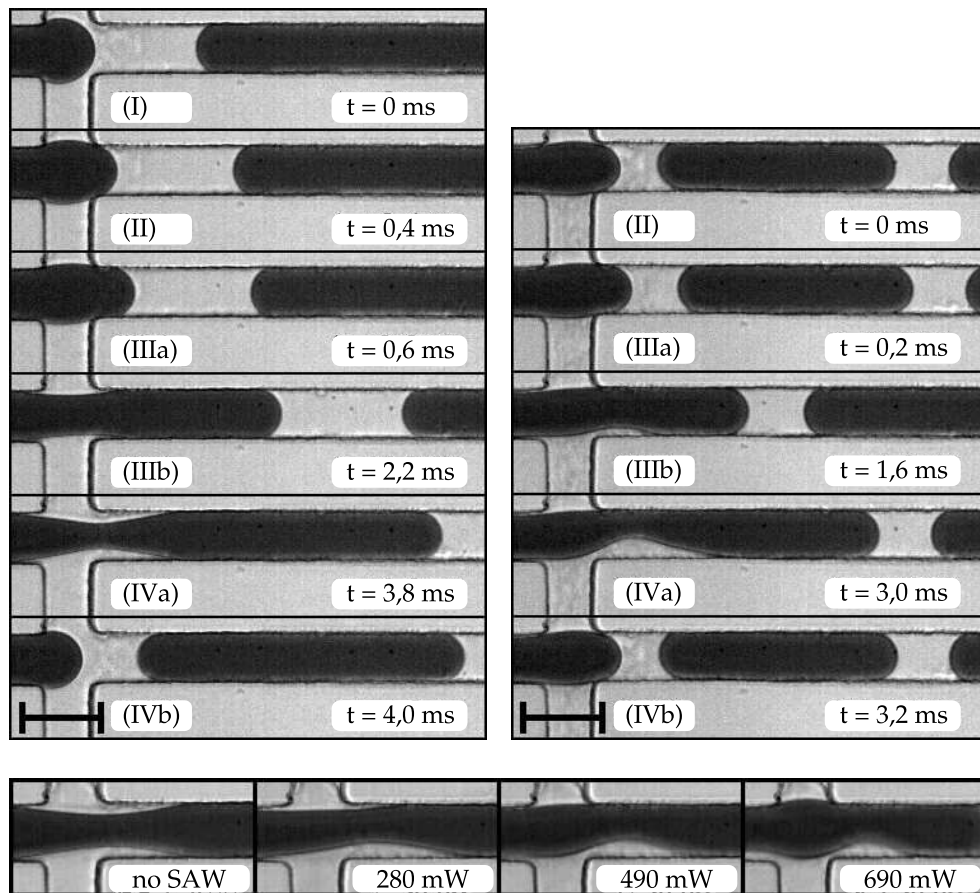


Abbildung 5.5: **(oben)** Der Ablauf der Tropfenbildung im Flow-Focusing-Kanal entspricht weitgehend dem Squeezing Regime der T-Junction-Geometrie. **(oben links)** Ohne SAW-Aktuation ist die Einschnürung in Phase IIIb und IVa völlig symmetrisch. **(oben rechts)** Durch die SAW ($P_{\text{SAW}} = 490$ mW) wird die Einschnürung in Phase IIIb und IVa asymmetrisch. Außerdem ist die Abschnürung ca. $20 \mu\text{m}$ flussabwärts verschoben. Dies führt dazu, dass die Phase I des Abschnürvorgangs übersprungen wird, da nach dem Abschnüren die Spitze der dispergierten Flüssigkeit sofort wieder den Auslasskanal blockiert. Im Vergleich dazu bleibt bei abgeschalteter SAW der Auslasskanal zunächst frei (siehe IVb und I links). **(unten)** Detailansicht der Einschnürung ca. $0,4$ ms vor dem Abschnüren. Man erkennt deutlich die Asymmetrie mit steigender SAW-Leistung und die flussabwärts verschobene Abschnürung.

bildet sich an der Oberseite sogar eine leichte Wölbung nach außen in den oberen Zulaufkanal. Außerdem verlagert sich die Position der Abschnürung unter Einfluss der SAW deutlich stromabwärts.

5.3.3 Diskussion

Die Tropfenbildung wird weitgehend vom Verhältnis der Flussraten der beiden Phasen an der Kreuzung bestimmt (Squeezing Regime). Zwar ist die Kapillarzahl mit $0,015 < Ca < 0,020$ etwas oberhalb des Übergangs zum Dripping Regime $Ca > 0,01$, der für T-Junction-Geometrien angegeben wird, allerdings deutet der Ablauf der Tropfenbildung und die Tatsache, dass der Tropfen den Ablaufkanal vollständig ausfüllt, darauf hin, dass das System sich noch im Squeezing Regime befindet.

Zur Erklärung des SAW-Effekts sind zwei Mechanismen denkbar. Die Oberflächenwelle wird als Volumenwelle in die kontinuierliche Flüssigkeit im unteren Mikrokanal transmittiert. Dort erzeugt sie zum einen durch viskose Dämpfung eine Volumenkraft auf die Flüssigkeit, wie in 2.2.5 beschrieben. Zum anderen ist denkbar, dass die Schallwelle an der Grenzfläche zwischen den beiden fluiden Phasen reflektiert wird und dadurch eine Kraft auf diese Grenzfläche ausübt. Ich werde im Folgenden zunächst auf die erste Hypothese näher eingehen.

Die Volumenkraft im Zulaufkanal führt zu einem Druckgradienten entlang der Ausbreitungsrichtung der SAW, die zur SAW-Leistung proportional ist. Der effektive Druck des unteren Zuflusskanals steigt damit um $\Delta p = \epsilon P_{\text{SAW}}$, mit der Proportionalitätskonstante ϵ . Dieser auf den unteren Zulaufkanal beschränkte Druckanstieg erklärt zunächst die beobachtete Asymmetrie der Einschnürung.

Da die Flussraten durch die volumengetriebenen Spritzenpumpen fest vorgegeben sind, würde man nach dem in Abschnitt 5.2 vorgestellten theoretischen Modell überhaupt keine Änderung der Tropfengrößen erwarten. Man kann den Einschnürvorgang jedoch auch durch einen Anstieg des Drucks in der kontinuierlichen Flüssigkeit während Phase III verstehen. Hier befindet sich die Grenzfläche in einem quasistatischen Gleichgewicht, der Druckunterschied zwischen den beiden Flüssigkeiten entspricht dem Laplacedruck der gekrümmten Grenzfläche. Schließlich wird ein kritischer Druck p_{crit} überschritten, das System gerät aus dem Gleichgewicht und Tropfen schnürt sich ab (vgl. [33]). Die Druckerhöhung in der kontinuierlichen Flüssigkeit wird verursacht durch den sich neu bildenden Tropfen, der den Ablaufkanal blockiert. Der Druck hängt zunächst von der Flussrate der kontinuierlichen Phase Q_c und der Länge l des Tropfens ab: $p \propto Q_c l$. Damit ergibt sich eine Abschnürlänge $l_0 \propto p_{\text{crit}}/Q_c$. Die SAW erhöht den Druck in der kontinuierlichen Phase nun zusätzlich: $p \propto Q_c l + \epsilon P_{\text{SAW}}$, womit die Abschnürlänge $l_{\text{SAW}} \propto (p_{\text{crit}} - \epsilon P_{\text{SAW}})/Q_c$ folgt.

Daraus lässt sich der oben beschriebene linearer Zusammenhang zwischen der relativen Längenänderung des Tropfens und der SAW-Leistung herleiten:

$l_{\text{SAW}}/l_0 = 1 - \epsilon/p_{\text{crit}}P_{\text{SAW}}$. Da die Flussrate Q_d gleich bleibt, erklärt dies aufgrund der kleineren Tropfenvolumina gleichzeitig die gemessene Erhöhung der Tropfenrate. Allerdings weichen die Messungen der Tropfenlängen in zwei Aspekten von der theoretischen Erwartung ab. Erstens verringert sich der Proportionalitätsfaktor $m = \epsilon/p_{\text{crit}}$ bei Verdoppelung der Flussrate Q_c deutlich ($m_{50} = 0,75 \pm 4 \text{ mW}^{-1}$ und $m_{100} = 0,51 \pm 3 \text{ mW}^{-1}$), obwohl er eigentlich flussratenunabhängig sein sollte. Dies lässt sich allerdings damit erklären, dass das System im Übergangsbereich zum Dripping Regime betrieben wurde und dadurch bei höheren Flussraten zusätzlich zum Druck auch Schereffekte zur Ablösung des Tropfens beitragen, die durch die SAW nicht beeinflusst werden. Zweitens gibt es deutliche Abweichungen vom theoretisch berechneten Verlauf: Bei niedrigen SAW-Leistungen werden größere Längen gemessen als theoretisch erwartet, bei hohen SAW-Leistungen sind die gemessenen Längen zu niedrig. Dies lässt sich jedoch einerseits dadurch erklären, dass die Abschnürposition bei höheren SAW-Leistungen stromabwärts verlagert wird und dadurch die Tropfen kürzer werden. Bei niedrigen SAW-Leistungen kommt noch ein zweiter Effekt zum tragen, der in Abbildung 5.5 deutlich wird: Der erhöhte SAW-Druck entweicht teilweise in den oberen Zulaufkanal. Bei höheren SAW-Leistungen hingegen wird die dispergierte Phase gegen diesen Zulaufkanal gedrückt und dieser dadurch blockiert. Außerdem verändert sich der hydrodynamische Widerstand des langen Auslasskanals in Abhängigkeit von der Tropfengröße, was Auswirkungen auf die Druckverhältnisse an der Kreuzung hat.

Dass die SAW zusätzlich eine akustischen Kraft auf die Grenzfläche der beiden Phasen bewirkt, ist bei dem hier beschriebenen Aufbau nicht völlig ausschließen. Deshalb wird die SAW in den folgenden Experimenten so positioniert, dass ein direkter Einfluss auf die Grenzfläche verhindert wird.

Zusammenfassend lässt sich aus den Messergebnissen schließen, dass eine durch die SAW verursachte Volumenkraft auf die Flüssigkeit des unteren Zulaufkanals einen zusätzlichen Druck erzeugt, der zur Abschnürung kleinerer Tropfen bei höheren Raten führt. Deshalb werde ich im folgenden Abschnitt die Erzeugung von Druckgradienten in Mikrokanälen durch SAW genauer untersuchen.

5.4 SAW-getriebene Druckpumpe für Mikrokanäle

Wird eine SAW parallel zur Flussrichtung in einen Mikrokanal eingekoppelt, so wirkt sie durch den entstehenden Druckgradienten als Druckpumpe. Diesen Effekt habe ich im vorangegangenen Kapitel zur Modulation von Tropfengeneratoren genutzt. Im folgenden Abschnitt untersuche ich die Eigenschaften einer solchen SAW-Mikrokanalpumpe genauer.

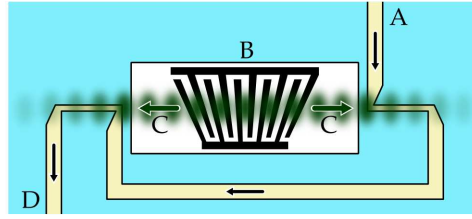


Abbildung 5.6: Die SAW-Mikrokanalpumpe in der Draufsicht. Die am IDT (B) erzeugte Oberflächenwelle (C) koppelt beidseitig in den Mikrokanal (A) ein, wobei die Ausbreitungsrichtung der Welle jeweils in Flussrichtung verläuft. Die Breite der Einkopplungskanäle ist deutlich breiter als die Oberflächenwelle, um eine möglichst homogene Volumenkraft auf der gesamten Kanalbreite zu erreichen.

5.4.1 Versuchsaufbau

Ich verwende wieder den in Kapitel 2.2.1 beschriebenen schrägen IDT, um eine fokussierte SAW mit einer Pfadbreite von ca. $125\text{ }\mu\text{m}$ zu erzeugen. Wie in Abschnitt 5.3.1 wird der Mikrofluidikkanal direkt auf den belasteten IDT-Chip gebunden. Um die Pumpe auch für kleinere Tropfengeneratoren einsetzen zu können, habe ich die Kanalhöhe auf $h = 25\text{ }\mu\text{m}$ reduziert. Die Breite der Einkopplungskanäle wird mit $b = 40\text{ }\mu\text{m}$ so gewählt, dass sie einerseits deutlich kleiner als die SAW-Pfadbreite ist, um eine möglichst gleichmäßige SAW-Intensität auf der ganzen Breite des Kanals zu gewährleisten, andererseits aber der hydrodynamische Widerstand nicht zu groß wird. Deshalb werden die übrigen Verbindungskanäle mit $100\text{ }\mu\text{m}$ deutlich breiter bemessen. Da der IDT Oberflächenwellen in zwei entgegengesetzte Richtungen abstrahlt, werden auf beiden Seiten jeweils ein Einkopplungskanal angefügt, um einen möglichst hohen Gesamtdruck zu generieren. Über die Anpassung der Anregungsfrequenz wird die Position der SAW exakt auf den Kanal ausgerichtet. Befüllt wird der Kanal mit HFE 7500. In Abbildung 5.6 ist die Pumpe schematisch dargestellt.

Zur Messung des Pumpendrucks wird der Ein- und Auslass des Mikrokanals jeweils an ein Flüssigkeitsreservoir gekoppelt, dessen Höhe mit Mikrometerschrauben fein justiert werden kann. Für verschiedene SAW-Leistungen wird dann jeweils der äußere hydrostatische Druck so angepasst, dass er den Pumpendruck exakt kompensiert und der Fluss im Kanal zum Erliegen kommt. Der Fluss wird durch kleine Tracerpartikel beobachtet. In einem zweiten Experiment wird außerdem durch Variation der Anregungsfrequenz der Einfluss der SAW-Positionierung auf den Druck der Pumpe untersucht.

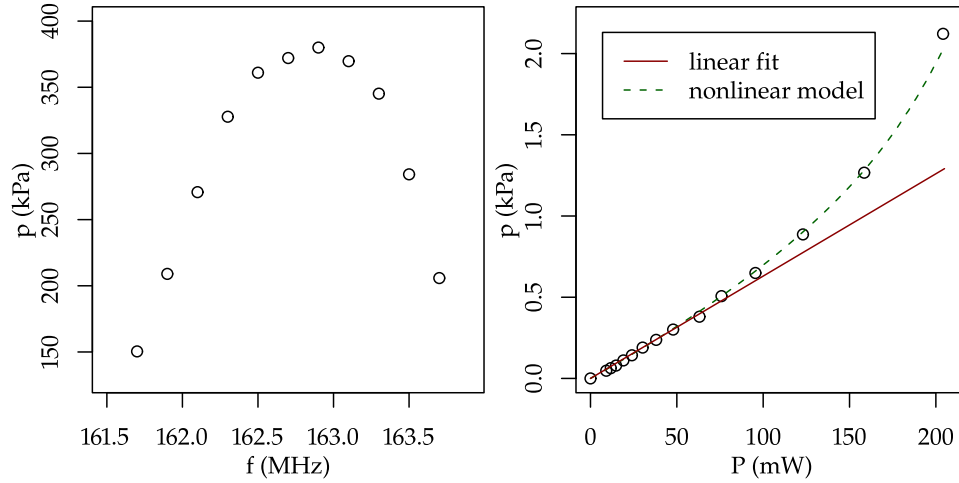


Abbildung 5.7: **(links)** Abhängigkeit des Drucks der Mikropumpe von der Anregungsfrequenz bei einer SAW-Leistung $P_{\text{SAW}} = 63$ mW. Durch die Verwendung eines T-IDT kann die SAW durch Anpassung der Frequenz exakt auf den Mikrokanal ausgerichtet werden. **(rechts)** Bei niedriger SAW-Leistung $P_{\text{SAW}} \leq 50$ mW besteht ein linearer Zusammenhang zwischen dem erzeugten Druck der Mikropumpe und der Anregungsleistung $p = \epsilon P_{\text{SAW}}$, mit $\epsilon = 6,3$ Pa/mW (linearer Fit). Bei höheren Leistungen steigt der Druck überproportional an. Dies lässt sich durch ein Modell beschreiben, das die Nichtlinearität der Schallausbreitung bei hohen Intensitäten berücksichtigt.

5.4.2 Ergebnisse

Die Mikropumpe erzeugt Drücke bis zu $p = 2,1$ kPa bei einer SAW-Leistung von $P_{\text{SAW}} = 204$ mW und einer Anregungsfrequenz von $f = 162,9$ MHz. Bei höheren Leistungen entstehen, vermutlich durch Erwärmung der Flüssigkeit, Gasblasen im Mikrokanal, die eine Druckmessung unmöglich machen.

Der erzeugte Druck ist wie erwartet von der Anregungsfrequenz der SAW abhängig (Abb. 5.7 links) und maximal, wenn die SAW exakt auf den Mikrokanal ausgerichtet ist. Die Halbwertsbreite der SAW beträgt ca. $\Delta f_{1/2} = 2$ MHz. Da die Messung den Intensitätsverlauf der SAW vom Ortsraum in den Frequenzraum transformiert, lässt sich daraus auf die Halbwertsbreite der SAW rückschließen: Mit der Änderung der Periodenlänge q entlang der Apertur x des T-IDT $\partial q / \partial x = 2,4 \cdot 10^{-3}$ ergibt sich die Verschiebung der Resonanzfrequenz $\partial f / \partial x = -f^2 c^{-1} \partial q / \partial x$. Damit erhält man für die Halbwertsbreite im Ortsraum $\Delta b_{1/2} = 125$ μm . Dies entspricht exakt der Literaturangabe.[31]

Betrachtet man den erzeugten Druck p als Funktion der Anregungsleistung P_{SAW} (Abb. 5.7 rechts), so fällt auf, dass nur für geringe SAW-Leistung $P_{\text{SAW}} \lesssim 50$ mW eine lineare Abhängigkeit $p = \epsilon P_{\text{SAW}}$ mit $\epsilon = 6,3 \text{ Pa/mW}$ besteht. Bei höheren Leistungen nimmt der Druck überproportional zu, und ist für $P_{\text{SAW}} = 204$ mW mit $p = 2,1$ kPa fast das doppelt so hoch wie aus der linearen Extrapolation zu erwarten wäre.

5.4.3 Diskussion

Wie in Kapitel 2.2 beschrieben, wird die Oberflächenwelle als 3D-Schallwelle in die Flüssigkeit im Mikrokanal eingekoppelt. Dort wird die Schallwelle gedämpft und entsprechend ein Teil ihres Impulsflusses Π auf die Flüssigkeit übertragen.[25] Unter der Annahme, dass die Welle im Kanal komplett gedämpft wird, entspricht der mittlere Impulsfluss $\bar{\Pi}$ genau dem erzeugten Druck p . Da der Impulsfluss jedoch in Richtung des Rayleigh-Winkels θ quer zur Flüssigkeit wirkt, reduziert sich der effektive Druck entlang des Kanals entsprechend zu:

$$p = \bar{\Pi} \sin \theta \quad (5.3)$$

Die mittlere Impulsflussdichte entspricht genau der mittleren Energiedichte \bar{E} der Schallwelle, die sich aus der Anregungsleistung P_{SAW} , der Geschwindigkeit der Schallwelle in der Flüssigkeit c_{HFE} bzw. der SAW c_{SAW} und der Querschnittsfläche des Schallstrahls $A = b\varsigma \cos \theta$ abschätzen lässt, mit Schallpfadbite b und Abklinglänge der SAW ς . Damit ergibt sich als obere Abschätzung für den Druck²:

²Die verwendeten Parameter sind in Anhang A.3 angegeben

$$p \leq \frac{P_{\text{SAW}}}{Ac_{\text{SAW}}} = P_{\text{SAW}} \cdot 12,8 \text{ Pa/mW} \quad (5.4)$$

Der tatsächlich gemessene Druck liegt im linearen Bereich $P_{\text{SAW}} < 50 \text{ mW}$ mit $6,3 \text{ Pa/mW}$ nur ungefähr halb so hoch, steigt aber bei höheren Leistungen bis auf $10,3 \text{ Pa/mW}$ an. Diese Abweichung deutet darauf hin, dass vor allem bei niedrigen Leistungen die Schallwelle im Kanal nicht vollständig gedämpft wird, und so nur einen Teil ihres Impulses an die Flüssigkeit abgibt. Bei höherer SAW-Leistung nimmt die Dämpfung offenbar zu. Im linearen Bereich lässt sich daraus eine Dämpfungslänge von $\varsigma_{\text{HFE}} = 86 \text{ }\mu\text{m}$ abschätzen. Eine Abschätzung der viskosen Dämpfungslänge aus allgemeinen theoretischen Überlegungen (Abs. 2.7) ergibt $\varsigma_{\text{HFE}} = 160 \text{ }\mu\text{m}$ für rein viskose Dämpfung. Falls zusätzlich Relaxationsphänomene mit Relaxationsraten $\tau^{-1} \lesssim f$ im Bereich der Schallfrequenz auftreten, ergeben sich deutlich kleinere Absorptionslängen.[51] Somit lassen sich die gemessenen Drücke im linearen Bereich gut durch das klassische Streaming-Modell erklären.

Die Zunahme der Dämpfung mit höheren Schallintensitäten hingegen lässt sich auf die Nichtlinearität der Schallausbreitung bei finiten Amplituden zurückführen; diese Nichtlinearität entsteht daraus, dass die Schallgeschwindigkeit, mit der sich die Welle im fluiden Medium fortpflanzt, dichteabhängig ist und sich somit die verschiedenen Phasen der Welle mit unterschiedlichen Geschwindigkeiten ausbreiten. Dies führt zu einer nichtlinearen Verzerrung der Welle.[75] Die entstehenden höheren Harmonischen führen aufgrund der Frequenzabhängigkeit des Absorptionskoeffizienten $\varsigma^{-1} \propto \omega^2$ zu einer massiven Erhöhung der Absorption in der Flüssigkeit.

Die Verzerrung wird durch die Schockwellendistanz

$$x_{\perp} = (\beta k u_a)^{-1} c \quad (5.5)$$

beschrieben.[75] Sie gibt die Propagationslänge an, nach der eine Sinuswelle zu einer Schockwelle verzerrt wurde und hängt vom Nichtlinearitätskoeffizienten des Mediums β ab, der für organische Flüssigkeiten von der Größenordnung $\beta \sim 10$ ist, sowie von Schallgeschwindigkeit c , Wellenzahl k und Schallschnelle u_a der anfänglichen Sinuswelle. Sie ist umgekehrt proportional zur Wurzel der SAW-Leistung $x_{\perp} \propto P_{\text{SAW}}^{-0,5}$; für die maximale SAW-Leistung $P_{\text{SAW}} = 204 \text{ mW}$ ergibt sich eine Schockwellendistanz der Größenordnung $x_{\perp} \sim 50 \text{ }\mu\text{m}$.

Für eine ebene Schallwelle mit geringer Dämpfung ($\varsigma \gg \lambda$) lässt sich die Schallschnelle einer verzerrten Welle für Propagationslängen $x < x_{\perp}$ als Fourierreihe

$$u(x, t) = 2u_a \sum_{n=1}^{\infty} u_n \sin(nk_0(x - c_0 t)) \quad (5.6)$$

mit den Koeffizienten

$$u_n = (-1)^{n+1} J_n(nx/x_{\perp}) / (nx/x_{\perp}) \quad (5.7)$$

schreiben.[16] Zusammen mit Gl. 2.25 lässt sich die Volumenkraft durch Summation des dissipativen Energieverlusts der Fourierkomponenten der Welle berechnen:

$$f(x) \propto u_a^2 \sum_{n=1}^{\infty} u_n(x)^2 \cdot \alpha n^2 \quad (5.8)$$

Die mittlere Volumenkraft wird durch Integration entlang des Propagationspfades der Länge l ermittelt:

$$\bar{f} \propto u_a^2 \int_0^l dx \sum_{n=1}^{\infty} u_n(x)^2 \cdot \alpha n^2 = \quad (5.9)$$

$$= \alpha u_a^2 \int_0^l dx \sum_{n=1}^{\infty} J_n^2(nx/x_{\perp}) / (x/x_{\perp})^2 \quad (5.10)$$

Da die Schallschnelle u_a genauso wie die Schockwellendistanz x_{\perp} von der SAW-Leistung abhängt $u_a \propto x_{\perp} \propto P_{\text{SAW}}^{-0,5}$, hängt die Volumenkraft \bar{f} nur von den zwei Parametern, ς und x_{\perp} ab. Für kleine Anregungsleistung $P_{\text{SAW}} < 50$ mW ist die Schockwellendistanz deutlich größer als die Propagationslänge im Kanal, deshalb können die Fourierkomponenten für $n > 1$ vernachlässigt werden und es ergibt sich eine lineare Abhängigkeit des Drucks von der Anregungsleistung, während die Nichtlinearität bei höheren Leistungen eine wichtige Rolle spielt.

Die experimentellen Daten lassen sich mit dem oben bestimmten Parameter Dämpfungslänge $\varsigma_{\text{HFE}} = 86$ μm sowie der Schockwellendistanz für die maximale Leistung $P_{\text{SAW}} = 204$ mW, $x_{\perp} = l = 25$ μm , gut an die Messwerte fitten (Abb. 5.7 links). Diese gefittete Schockwellendistanz stimmt auch gut mit der oben theoretisch abgeschätzten Größenordnung $x_{\perp} = 50$ μm überein.

Die gute Übereinstimmung der Messwerte mit dem theoretischen Modell zeigen, dass der postulierte Wirkmechanismus der SAW-getriebenen Druckpumpe korrekt ist. Die gemessene Kalibrierkurve ermöglicht nun eine genauere Untersuchung der Wirkung der SAW auf den mikrofluidische Tropfengenerator.

5.5 SAW-Druckgetriebene Modulation eines T-Junction-Tropfengenerators

In Abschnitt 5.3 wird die Modulation der Tropfengröße durch eine in der Nähe der Kanalkreuzung eingekoppelte SAW am Beispiel der Flow-Focusing-Geometrie untersucht. In Abschnitt 5.4 wird eine SAW-getriebene Mikrokanalpumpe gezeigt und daran die Einkopplung der SAW näher untersucht und eine Kalibrierkurve für den Pumpendruck bestimmt. Im Folgenden wird diese Mikropumpe mit einem Tropfengenerator mit T-Junction-Geometrie kombiniert. Der Tropfengenerator wird durch pneumatischen Druck getrieben und ermöglicht so den direkten Vergleich von SAW-Modulation und Druckmodulation der Tropfengröße.

5.5.1 Versuchsaufbau

Die in Abschnitt 5.4 beschriebene Mikropumpe wird in den Einlasskanal der kontinuierlichen Phase eines T-Junction-Tropfengenerators eingebaut. Die Kanalhöhe beträgt $h = 25 \mu\text{m}$, an der T-Kreuzung beträgt die Breite der Kanäle ebenfalls $b = 25 \mu\text{m}$. Wie in den vorangegangenen Experimenten wird der Mikrokanal direkt auf die Oberfläche des IDT-Substrats gebunden.

Der Zufluss der beiden Phasen wird pneumatisch mit Hilfe von zwei Druckbehältern angetrieben, die dabei angelegten Drücke mittels U-Rohr-Manometern gemessen. Es wird zunächst ein bestimmter Druck in der dispergierten Phase p_d eingestellt, und anschließend der Druck in der kontinuierlichen Phase p_c so angepasst, dass möglichst lange monodisperse Tropfen entstehen. Die genauen Werte sind in der Legende in Abb. 5.8 angegeben. Zunächst wird p_c pneumatisch erhöht und die Tropfenlängen aufgenommen; anschließend wird p_c auf den Ausgangswert gebracht und die SAW-Leistung P_{SAW} variiert, um den effektiven Druck p_{eff} in der kontinuierlichen Phase an der T-Kreuzung zu modulieren.

Die Experimente werden am Mikroskop mit einer Hochgeschwindigkeitskamera bei einer Bildrate von 2000 s^{-1} aufgenommen und wie in Abschnitt 5.3.1 beschrieben automatisiert ausgewertet.

5.5.2 Ergebnisse

In Fig. 5.8 oben ist die Tropfenlänge sowie die Rate für die verschiedenen Drücke in Abhängigkeit von der SAW-Leistung P_{SAW} dargestellt. An der dargestellten Standardabweichung der Messwerte lässt sich erkennen, dass die Tropfengrößen – unabhängig von der Modulation – sehr monodispers sind. Die Tropfenraten streuen hingegen bei hohen Werten stärker. Dies ist zum Teil jedoch auf die Darstellung in der Frequenzdomäne zurückzuführen. Absolute Fehler in der Zeitmessung führen hier bei höheren Frequenzen (niedrigere Periodendauern) zu höheren Relativfehlern. Durch die Modulation konnten

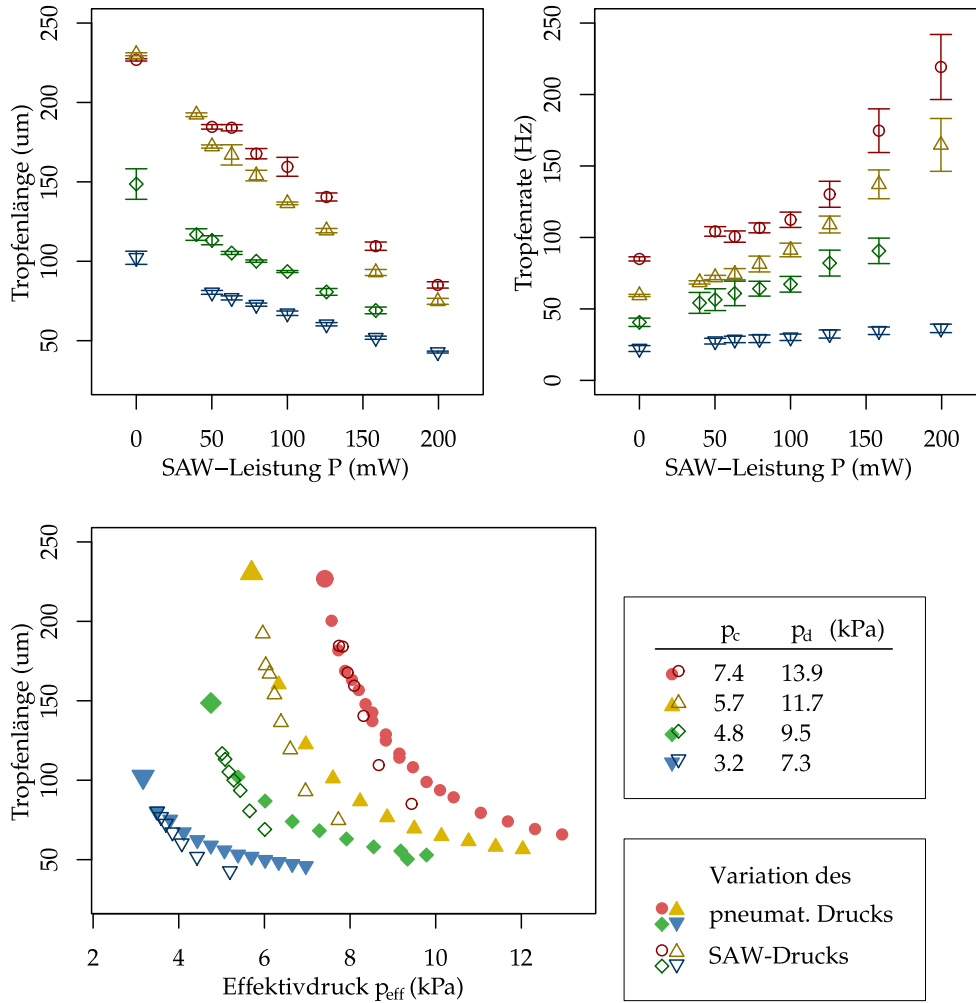


Abbildung 5.8: (oben) Die SAW-modulierte Tropfenlänge und -rate im T-Junction-Tropfengenerator in Abhängigkeit von der SAW-Leistung. Die verschiedenen Messreihen wurden bei unterschiedlichen statischen Drücken in den Einlassreservoirs aufgenommen, die in der Legende rechts unten angegeben sind. Die Fehlerbereiche geben die Standardabweichung der Messwerte an. (unten links) Vergleich der SAW-Modulation mit der pneumatischen Modulation der Tropfenlängen. Hier wurde bei den vier verschiedenen statischen Drücken im Einlassreservoir der kontinuierlichen Flüssigkeit der Effektivdruck am Tropfengenerator einmal durch Erhöhung des statischen Einlass-Drucks (gefüllte Symbole) und zum anderen durch Einschalten der SAW-Druckpumpe (offene Symbole) erhöht. Die Messreihen stimmen bei niedrigen Druckerhöhungen gut überein. Bei hohen Drücken ergeben sich leichte Abweichungen.

die Tropfenlängen um bis zu 60% verkürzt werden, die Tropfenraten stiegen entsprechend um bis zu 155% an.

In Fig. 5.8 unten links wird die Tropfengröße in Abhängigkeit vom effektiven Druck der kontinuierlichen Phase an der T-Kreuzung p_{eff} dargestellt. Im Falle der pneumatischen Modulation entspricht dieser einfach dem pneumatischen Druck p_c . Für den Fall der SAW-Modulation wurde die in Abschnitt 5.4 gemessene Kalibrierkurve verwendet, der effektive Druck beträgt dann $p_{\text{eff}} = p_c + p(P_{\text{SAW}})$. Für niedrige Drücke ergibt sich jeweils eine gute Übereinstimmung zwischen den Messreihen. Bei hohen Drücken und entsprechend hohen SAW-Leistungen divergieren die Messreihen jedoch; die gemessenen Tropfenlängen bei SAW-Modulation liegen hier niedriger als die bei pneumatischer Modulation gemessenen Längen.

5.5.3 Diskussion

Die gute Übereinstimmung bestätigt im Wesentlichen die Hypothese, dass die Modulation der Tropfengrößen im Wesentlichen durch den Druckgradienten erklärt werden kann, der durch die SAW im Mikrokanal erzeugt wird. Die Abweichung bei hohen Drücken p_{eff} bzw. SAW-Leistungen lässt sich vermutlich durch einen Temperatureffekt der SAW erklären. Denn bei hohen Drücken und entsprechend geringen Tropfengrößen befindet sich das System im Übergangsbereich zum Dripping Regime – somit hat auch die Viskosität und die Oberflächenspannung, beides temperaturabhängige Parameter, einen Einfluss auf die Tropfengröße.

5.6 Echtzeit-Modulation der Tropfengrößen durch SAW-Pulse

Bisher wird die Tropfengröße durch eine konstant einwirkende SAW-Leistung moduliert. Der elektrisch betriebene SAW-IDT ermöglicht jedoch auch den Betrieb im Puls-Modus. Dadurch lassen sich Tropfen in Echtzeit modulieren und die Tropfenrate kann an mit dem Modulationssignal synchronisiert werden.

Abhängig von Flussrate bzw. Druck, SAW-Intensität und Modulationsfrequenz lassen sich zwei Regime unterscheiden. In bestimmten Parameterbereichen wird die Tropfenabschnürung durch die SAW-Pulse ausgelöst und die Tropfenrate ist auf das Modulationssignal synchronisiert. Bei anderen Parametern findet keine vollständige Synchronisation statt. Teilweise schnürt sich nur bei jedem zweiten SAW-Puls ein Tropfen ab, es lassen sich aber auch bistabile und chaotische Regime beobachten. Die Tropfen sind hier stark polydispers.

Da das instabile System schwer zu charakterisieren ist und für die praktische Anwendung keine Rolle spielt, wird hier nur ein kurzer Überblick gegeben. Eine genaue Untersuchung würde den Rahmen dieser Arbeit sprengen.

5.6.1 Versuchsaufbau

Hier wird der in Abs. 5.3 beschriebene Flow-Focusing-Tropfengenerator verwendet. Als Modulationssignal dient entweder ein einfaches Pulssignal mit Periodizität T und Pulsdauer τ oder ein Doppelpuls-Signal, bei dem aufeinanderfolgende Pulse bei gleichem τ jeweils unterschiedliche Periodendauern T_1 und T_2 aufweisen. Die Leistung der SAW-Pulse beträgt $P_{\text{SAW}} = 800 \text{ mW}$. Es werden drei verschiedene Flussraten für die dispergierten Lösung Q_d verwendet: $100 \mu\text{lh}^{-1}$, $50 \mu\text{lh}^{-1}$ und $25 \mu\text{lh}^{-1}$. Die Doppelpuls-Experimente werden nur bei der niedrigsten Flussrate $Q_d = 25 \mu\text{lh}^{-1}$ durchgeführt. Flussrate der kontinuierlichen Lösung ist jeweils halb so groß: $Q_c = Q_d/2$. Die Experimente werden wie in Abs. 5.3 beschrieben mit einer Hochgeschwindigkeitskamera bei einer Bildrate von 5000 s^{-1} aufgenommen und automatisiert ausgewertet.

5.6.2 Stabiles Regime

Im stabilen Regime wird – nach einer kurzen Einschwingzeit – durch jeden SAW-Puls ein neuer Tropfen abgeschnürt. Die Tropfenrate ist dadurch exakt auf die Pulsrate synchronisiert.

Abbildung 5.9 (oben) zeigt den zeitlichen Ablauf beim Einschalten einer modulierten SAW. Vor dem Einschalten ($t < 0$) sind die Tropfen sehr lang, und die Tropfenlänge schwankt zum einen aufgrund von schnellen Schwingungen in der Spritzenpumpe auf einer Zeitskala von $0,1 \text{ s}$ (die sichtbaren Schwingungen), und zum anderen aufgrund langsamer Drift, die sich in den sichtbaren Abweichungen zwischen aufeinanderfolgenden Experimenten zeigt (die durch die Spritzenpumpen angelegten Flussraten waren stets gleich). Nach dem Einschalten bei $t = 0$ ändert sich die Tropfenlänge abrupt, abhängig von der Periodendauer T des Modulationssignals. Diese Änderung erfolgt in den meisten Fällen innerhalb von maximal 25 ms und es werden beim Umschalten maximal 5 Tropfen mit „Zwischengrößen“ produziert. Einzige Ausnahme ist die kürzeste Periodendauer $T = 2,5 \text{ ms}$, bei der ein längerer Einschwingvorgang stattfindet.

Am Ende dieses Einschwingvorganges führt jeder SAW-Puls zum Abschnüren eines Tropfens – die Tropfenrate ist komplett auf das Modulationssignal synchronisiert. Reduziert man die Periodendauer T noch weiter, so steigt die Tropfenrate wieder an – dann wird nur noch mit jedem zweiten Puls ein Tropfen abgeschnürt.

Nach dem Einschwingvorgang ist die Varianz der Größen aufeinanderfolgender Tropfen deutlich reduziert, die schnellen Schwingungen sind verschwunden, während jedoch eine langsame Drift immer noch vorhanden ist. Dieser Unterschied ist auch in der Autokorrelationsfunktion (Abb. 5.9 unten) aufeinanderfolgender Tropfen deutlich zu sehen. Bei der unmodulierten Tropfenbildung erkennt man deutlich eine Schwingung mit einer Periodenlänge von 6 Tropfen; Nach dem Einschalten der SAW-Modulation verschwindet diese Schwingung

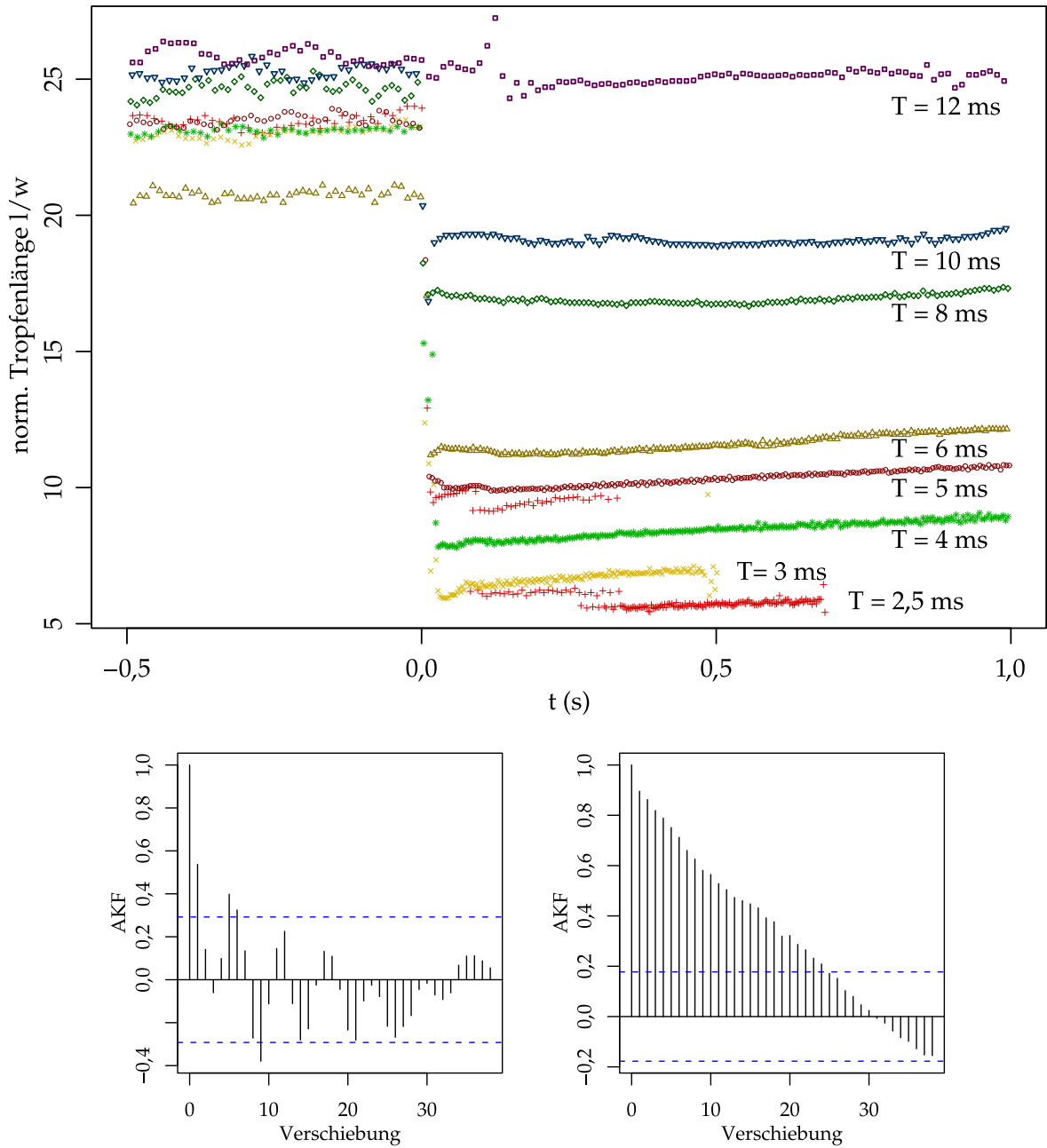


Abbildung 5.9: (oben) Zeitliche Entwicklung der Tropfengröße bei pulsmodulierter SAW im Tropfengenerator. Die verschiedenen Farben stellen unterschiedliche Modulationsperiodizitäten T dar. Zum Zeitpunkt $t=0$ wird Tropfengröße durch die eingeschaltete Oberflächenwelle moduliert, wobei die Länge von der Periodendauer des Modulationssignals T abhängt. (unten) Die Autokorrelationsfunktion der Messreihe für $T = 8$ ms zeigt, dass ohne SAW-Modulation (links) deutliche Schwingungen im System auftreten, die beim Einschalten der SAW (rechts) unterdrückt werden.

und man erkennt die typische lange Korrelation von driftenden Messwerten. Durch die SAW-Modulation wird also die Bildung monodisperser Tropfen stabilisiert.

Die SAW-Modulation der Tropfenabschnürung lässt sich mit Hilfe des von Abate et al.[5] beschriebenen Druckverlaufs in der kontinuierlichen Phase oberhalb der T-Junction erklären. Da der hier verwendete Flow-Focusing-Tropfengenerator ebenfalls im Squeezing Regime arbeitet, lassen sich die Druckverhältnisse analog betrachten.

In Abbildung 5.10 oben ist der Druckverlauf ohne SAW-Modulation skizziert. Da der sich bildende Tropfen den Abfluss der kontinuierlichen Phase verhindert, steigt deren Druck an und erreicht schließlich eine kritische Schwelle p_{crit} , die zur Abschnürung des Tropfens führt. Die von Abate gemessene Druckschwelle lag bei ca. 0,6 kPa. Die Messungen in Abschnitt 5.4.2 legen nahe, dass dieser kritische Druck durch die SAW-Aktuation problemlos erreichbar sein sollte. Allerdings wurden diese Messungen im kontinuierlichen Betrieb vorgenommen; im Pulsbetrieb ist ein geringerer Druck zu erwarten. Außerdem wirkt der SAW-Druck im Flow-Focusing-Aufbau nur einseitig auf den Tropfen. Durch die SAW-Modulation wird zusätzlich zu der durch den Tropfen ausgelösten Druckerhöhung ein Druckpuls erzeugt (Abb. 5.10 mitte). Durch diesen zusätzlichen SAW-Druck wird schließlich der kritische Druck p_{crit} erreicht und der Tropfen abgeschnürt.

Dieses Modell erklärt auch, warum bei sehr kurzer Periodendauer T nur jeder zweite Modulationspuls einen Tropfen abschnürt (Abb. 5.10 unten): Bei sehr kurzem T ist der Druck im Kanal noch nicht ausreichend angestiegen, sodass alleine durch den SAW-Druckpuls der kritische Druck p_{crit} zunächst nicht erreicht wird. Erst der darauffolgende zweite SAW-Puls erreicht den kritischen Druck, wodurch die Tropfenrate nur der halben Modulationsfrequenz entspricht.

Als nächstes betrachte ich die Abhängigkeit der Tropfenlänge von der Periodendauer der Modulation. In Abbildung 5.11 oben links ist die relative Tropfenlänge l/w , bezogen auf die Kanalbreite w , in Abhängigkeit von der Periodendauer T der Pulsmodulation

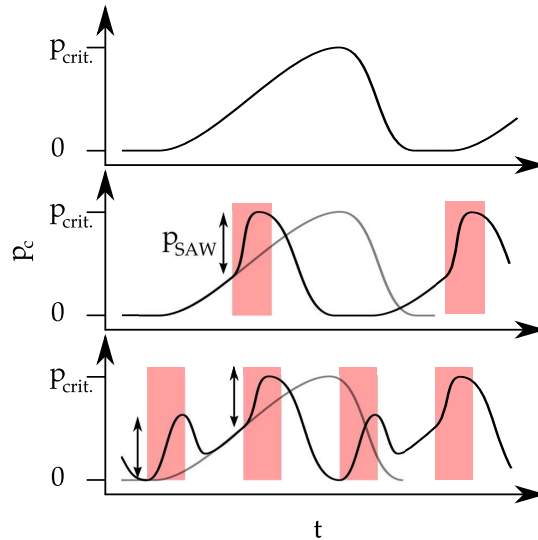


Abbildung 5.10: Skizze des Druckverlaufs in der kontinuierlichen Phase (**oben**) oberhalb der Junction ohne SAW, (**mitte**) bei langsamer SAW-Modulation sowie (**unten**) bei schneller Modulation. Die SAW-Pulse sind rot dargestellt.

on dargestellt, wobei die Fehlerbalken die Standardabweichung der Messwerte zeigen. Die Tropfenlänge l/w nimmt wie erwartet mit der Periodendauer T zu, wobei sich bei der niedrigsten Flussrate $Q_d = 25 \text{ } \mu\text{lh}^{-1}$ vor allem bei kleinem T eine deutliche Abweichung vom linearen Verlauf zeigt. Hier deutet auch die große Streuung der Messwerte darauf hin, dass das System sich hier im Übergangsbereich zum instabilen Regime befindet.

Unter der Annahme einer zylindrischer Tropfenform mit Kugelkappen (Radius $r = w/2$) lässt sich die Tropfenlänge in Abhängigkeit von der Periodendauer ausdrücken: $l/w = mT + 1/3$, mit Proportionalitätsfaktor $m = 4Q_d/\pi w^3$. Ein entsprechender Fit zeigt eine gute Übereinstimmung zwischen theoretisch berechneten und gemessenen m (Tab. 5.1).

$Q_D \text{ (}\mu\text{lh}^{-1}\text{)}$	$m_{\text{exp.}}$	$m_{\text{theo.}} \text{ (ms}^{-1}\text{)}$
25	0,328	0,327
50	0,707	0,655
100	1,36	1,31

Tabelle 5.1

Variiert man die Periodendauer T_1, T_2 von aufeinanderfolgenden SAW-Pulsen, so weisen auch die entsprechenden Tropfen unterschiedliche Längen auf. Abbildung 5.11 unten zeigt ein solches Experiment mit unterschiedlichen Periodendauern.

Betrachtet man die statistische Verteilung der Tropfenlängen im Histogramm (Abb. 5.11 Mitte), so fällt auf, dass die zwei Tropfenpopulationen bei nur leicht unterschiedlichen Periodendauern eine ähnliche Standardabweichung haben (links; $T_1 = 7 \text{ ms}$, $T_2 = 6 \text{ ms}$), während bei stark unterschiedlichen Periodendauern (rechts; $T_1 = 14 \text{ ms}$, $T_2 = 6 \text{ ms}$) die kurzen Tropfen eine deutlich geringere Standardabweichung der Tropfenlängen zeigen und annähernd monodispers werden, während die Standardabweichung bei langen Tropfen gleich bleibt.

Betrachtet man die Tropfenlängen bei unterschiedlichen Pulslängen T_1 , während T_2 konstant gehalten wird (Abbildung 5.11 rechts oben), so fällt auf, dass die Länge des langen Tropfens wie im Einzelpulsbetrieb linear mit der Periodendauer T_1 zunimmt, wobei die Proportionalitätsfaktoren m von der Periodenlänge T_2 abhängen ($m = 0,416$ für $T_2 = 6 \text{ ms}$, $m = 0,353$ für $T_2 = 8 \text{ ms}$) und auch von dem Wert für Einfachpulse ($m = 0,328$) abweichen. Außerdem wird der kurze Tropfen trotz konstant gehaltenem T_2 mit steigendem T_1 deutlich kürzer.

Dies lässt sich intuitiv verstehen, wenn man die Druckverhältnisse im Tropfengenerator betrachtet. Je länger die Zeit dauert, bis ein Tropfen durch einen SAW-Puls abgeschnürt wird, desto weiter sinkt der Druck im Zulauf der dispergierten Phase ab. Und je geringer der Druck nach dem Abschnüren eines

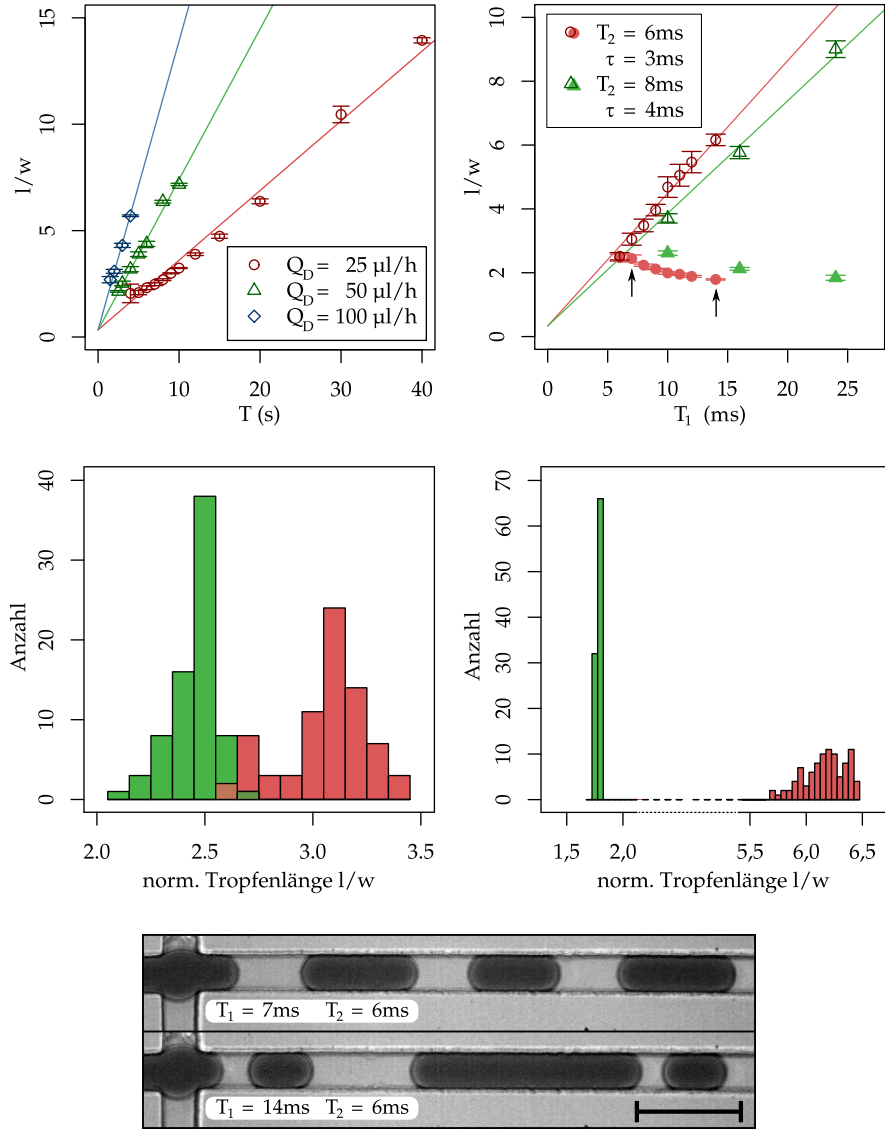


Abbildung 5.11: (oben links) Tropfenlänge (normiert auf Kanalbreite w) in pulsbetriebenen SAW-Tropfengeneratoren in Abhängigkeit von der Periodendauer T . Das Volumen der Tropfen steigt linear mit T , die Steigung der Geraden entspricht hierbei der Flussrate der dispergierten Flüssigkeit Q_D . (oben rechts) Normierte Tropfenlänge bei Doppelpulsen mit unterschiedlichen Periodendauern $T_1 > T_2$. Die Länge des längeren Tropfens steigt wie erwartet mit T_1 , die Länge des kürzeren Tropfens verringert sich, obwohl T_2 konstant gehalten wird. Die mit Pfeilen markierten Messreihen sind außerdem als Histogramm dargestellt: (mitte) Größenverteilung der Tropfen bei Doppelpulsen. $T_2 = 6\text{ ms}$ jeweils, $T_1 = 7\text{ ms}$ (links) und $T_1 = 14\text{ ms}$ (rechts). (unten) Mikroskopische Aufnahme des Doppelpuls-Experiments bei verschiedenen T_1 .

Tropfens ist, desto langsamer wächst der darauffolgende Tropfen. Dementsprechend erreicht er bis zum nächsten SAW-Puls nur eine geringere Länge.

5.6.3 Synchronisierte und Quasiperiodische Regime beim Einschwingvorgang

Beim Einschalten der gepulsten Oberflächenwelle lässt sich ein Einschwingvorgang beobachten, in dessen Verlauf sich die Tropfenabschnürung auf die Modulationsfrequenz synchronisiert. In 5.12 ist die Tropfenlänge l/l_∞ während eines solcher Einschwingvorgangs dargestellt, normiert auf die stabile Tropfenlänge des synchronisierten Systems l_∞ . Ebenfalls angegeben ist die Phase der Abschnürung $t' = \Delta t/T$, d. h. die Zeitspanne Δt zwischen dem Beginn des letzten SAW-Pulses und dem Abschnürzeitpunkt des Tropfens, normiert auf die Periodenlänge $T = 2,5$ ms. Der Abschnürzeitpunkt lässt sich Aufgrund der Bildrate von 2000 s^{-1} jedoch nur auf 0,5 ms genau angeben. Das Zeitintervall des Pulses ist zur Orientierung grau hinterlegt. Die Flussrate betrug bei diesem Experiment $Q_D = 25\text{ }\mu\text{lh}^{-1}$.

Zunächst fällt auf, dass der Einschwingvorgang stark von der Pulsbreite τ abhängt. Bei einem langen Puls $\tau = 1,5$ ms hat sich das System nach einer Einschwingdauer von nur 340 ms komplett auf die Pulsrate synchronisiert, sodass jeder Puls zur Abschnürung genau eines Tropfens führt und die Tropfenlänge konstant ist. Während des Einschwingvorgangs selbst werden die Tropfen sukzessive kürzer; die Tropfenproduktion ist so auf die Anregung (teil-)synchronisiert, sodass die Periodendauer der Tropfenbildung T_{drop} einem ganzzahligen Vielfachen der Periodendauer der Anregung T entspricht: Am Anfang wird zunächst regelmäßig mit jedem zweiten SAW-Puls ein Tropfen abgeschnürt ($T_{\text{drop}} = 2T$). Die Tropfenlänge beträgt hier zunächst das 1,7-fache des stabilen Endwerts. Nach ca. 80 ms stellt sich ein Regime ein, bei dem abwechselnd jeweils nach einem bzw. zwei SAW-Pulsen ein Tropfen abgeschnürt wird ($T_{\text{drop}} = 3T$). Die normierte Tropfenlänge beträgt hier 1,1 bzw. 1,6-1,7. Nach 270 ms Einschwingdauer folgen während einer kurzen Zwischenphase jeweils 2-3 „kurze“ Tropfen auf einen „langen“ Tropfen – ein quasiperiodisches Regime – bis nach 340 ms der stabile Endzustand erreicht ist ($T_{\text{drop}} = T$).

Verkürzt man die Pulslänge auf $\tau = 1,4$ ms bzw. $\tau = 1,3$ ms, so verlängert sich die Dauer des Einschwingvorgangs bis zur vollständigen Synchronisation auf 490 ms bzw. 560 ms. Außerdem tritt im zweiten Fall auch kein bistabiles Regime, sondern nur eine quasiperiodische Phase ein, in der die Tropfenlänge unregelmäßig schwankt. Bei noch kürzerer Pulslänge ($\tau = 1,2$ ms) wird zunächst nur mit jedem dritten Puls ein Tropfen abgeschnürt ($T_{\text{drop}} = 3T$), daraufhin abwechselnd ein mit jedem Dritten bzw. Zweiten ($T_{\text{drop}} = 5T$), und schließlich bleibt das System (nach 200 ms) in einem stabilen Regime, bei dem jeder zweite SAW-Puls einen neuen Tropfen produziert ($T_{\text{drop}} = 2T$). Eine vollständige Synchronisation mit $T_{\text{drop}} = T$ geschieht hier nicht.

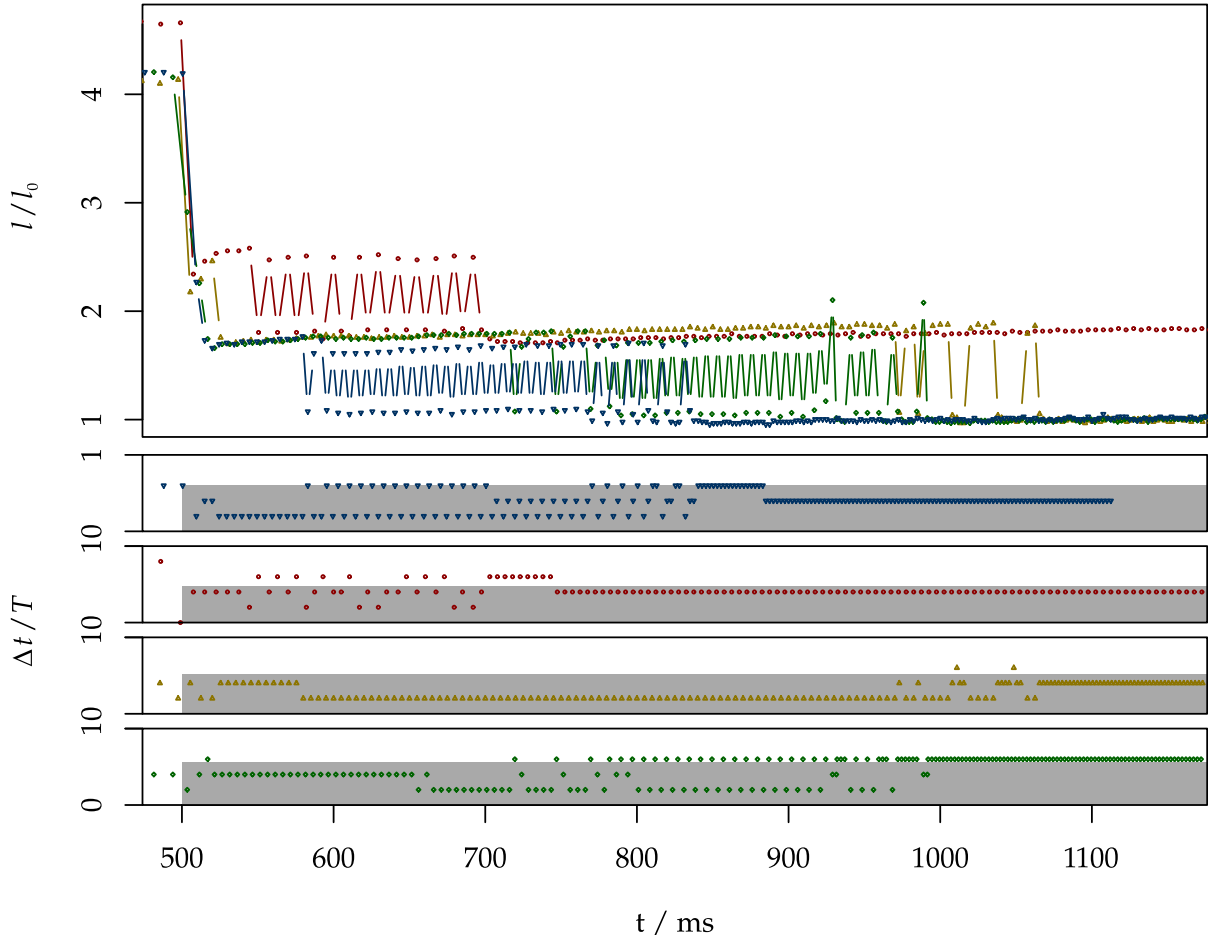


Abbildung 5.12: Verlauf der Tropfenlängen beim Einschalten eines modulierte SAW-Pulses. Oben aufgetragen ist die Tropfenlänge l/l_∞ normiert auf die stabile Tropfenlänge am Ende des Einschwingvorgangs l_∞ gegen die Zeit. Das untere Diagramm zeigt die Zeitspanne Δt zwischen dem Beginn des SAW-Pulses und dem Abschnürzeitpunkt, normiert auf die Periodenlänge $T = 2,5$ ms, wobei das Zeitintervall des SAW-Pulses grau hinterlegt ist. Die Länge des SAW-Pulses betrug 1,2 ms (rot), 1,3 ms (gelb), 1,4 ms (grün) bzw. 1,5 ms (blau). Es treten verschiedene synchronisierte Regime auf, bei denen sich zum Teil lange und kurze Tropfen abwechseln. Nach einer gewissen Einschwingzeit stabilisiert sich das System auf eine konstante Tropfenlänge, und zwar um so schneller, je länger der SAW-Puls ist. Bei der kürzesten Pulslänge führt jedoch im stabilen Endzustand nur jeder zweite SAW-Puls zum Abschnüren eines Tropfens, weshalb die Tropfen deutlich länger sind als bei den anderen Pulslängen.

Für die beobachteten Regimes mit $T_{\text{drop}} = 2T$, wenn regelmäßig mit jedem zweiten SAW-Puls ein Tropfen abgeschnürt wird, weichen die Tropfenlängen bei verschiedenen Pulslängen nur wenig voneinander ab, im voll-synchronisierten Regime am Ende ($T_{\text{drop}} = T$) sind die Tropfen für alle Pulslängen gleich lang und zeigen auch eine sehr geringe Polydispersität.

Die Phasenlage t' bietet einen ersten Erklärungsansatz für die Oszillation der Tropfenlänge im bistabilen Regime. Die Abschnürung eines kurzen Tropfens erfolgt jeweils gegen Ende des SAW-Pulses. Dadurch kann sich bis zum darauffolgenden Puls nur ein sehr kurzer Tropfen bilden, sodass der darauffolgende SAW-Puls nicht genug Druck aufbauen kann, um den Tropfen abzuschneiden. Bis zum übernächsten Puls ist der Tropfen jedoch soweit angewachsen, dass er schon kurz nach Einschalten des Pulses abgeschnürt wird. Durch diesen frühen Abschnürzeitpunkt wird der darauffolgende Tropfen bis zum folgenden Puls wiederum lang genug, um abgeschnürt werden zu können, womit sich der Kreislauf wiederholt.

In einem ähnlichen Tropfengenerator-System, bei dem in einem Mikrokanal integrierte hydrodynamische Ventile verwendet wurden, um eine periodische Anregung zu erzeugen, wurden analoge synchronisierte und quasiperiodische Regime beobachtet[103], und theoretisch beschrieben als ein Resonanzprozess, bei dem die natürliche Abschnürdauer T_0 durch die äußere Anregung beeinflusst wird. Allerdings wurde dort nicht wie in unserem Fall eine Transiente beobachtet, sondern der stationäre Betrieb, bei dem jeweils nur ein synchronisiertes bzw. quasiperiodisches Regime auftrat.

Im Gegensatz dazu durchläuft unser System mehrere verschiedene Regime nacheinander. Dies lässt sich verstehen, wenn man berücksichtigt, dass nach dem Einschalten des SAW-Pulses im Zulauf der kontinuierlichen Phase ein Anstieg des zeitlich gemittelten Drucks erfolgt. Dieser führt zunächst zu einer Erhöhung der Flussrate Q_c und einer Verringerung von Q_d . Da durch die Spritzenpumpen jedoch ein konstanter Volumenfluss vorgegeben wird, relaxieren die Flussraten auf einer Zeitskala von ca. einer Sekunde wieder auf den ursprünglichen Wert. Währenddessen verändern sich kontinuierlich die Parameter unseres Systems, die die natürliche Abschnürdauer T_0 vorgeben, was wiederum die Resonanz des Systems beeinflusst.

Eine solche Transiente, ausgelöst durch den Anstieg des Drucks des Zulaufs, ist natürlich im Betrieb unerwünscht, da sie das schnelle Schalten zwischen verschiedenen Tropfengrößen verhindert. Ein möglicher Lösungsansatz ist, dass man beim Umschalten nur die Periodenlänge T der SAW-Anregung verändert, das Tastverhältnis τ/T und die SAW-Leistung jedoch gleich lässt. Da der mittlere SAW-Druck nur von den letzten beiden Parametern abhängt, sollte damit keine Transiente auftreten.

5.7 Zusammenfassung

Ich habe gezeigt, dass ein SAW-Aktuator zur Modulation der Tropfengröße in mikrofluidischen Tropfengeneratoren hervorragend geeignet ist. Es lassen sich sowohl volumen- als auch flussgetriebene Systeme modulieren, und hohe Tropfenraten von bis zu $840 \pm 28 \text{ s}^{-1}$ erzielen. Auch die Modulation von Tropfengrößen in Echtzeit, die durch die schnelle elektrische Ansteuerung möglich wird, konnte ich demonstrieren. Bei aufeinanderfolgenden Pulsen mit unterschiedlichen Periodendauern lassen sich verschieden große Tropfen abwechselnd im selben Tropfengenerator erzeugen, wobei das Größenverhältnis der Tropfen bis zu 1:5 betragen kann. Auch lässt sich die Tropfenrate mit dem SAW-Puls synchronisieren. Dies ist vor allem für Lab-on-a-Chip-Anwendungen von Interesse, bei denen mehreren sukzessive Prozessschritte abgearbeitet werden.

Außerdem habe ich die physikalischen Grundlagen des SAW-Aktuators als Druckpumpe untersucht, der bei hoher Schallleistung eine nichtlineare Kennlinie zeigt. Diese konnte ich durch Verzerrungseffekte erklären, deren Ursache in der Nichtlinearität der Schallausbreitung bei finiten Amplituden liegt.

Grundsätzlich eignet sich der SAW-Aktuator nicht nur zur Modulation von Tropfengrößen. In mikrofluidischen Analysesystemen sind vielerlei Einsatzmöglichkeiten denkbar, bei denen eine schnelle elektrische Steuerung von Drücken bzw. Flüssen benötigt wird. So werden in meiner Arbeitsgruppe beispielsweise mikrofluidische Tropfenfallen entwickelt, in denen Tropfen aus dem Kanalfluss eingefangen, einige Zeit – z. B. zur Analyse – aufbewahrt und anschließend mittels SAW-Aktuator wieder in den Fluss ausgeworfen werden.

Dies zeigt, dass die hier vorgestellte SAW-Druckpumpe ein vielseitig einsetzbarer Baustein zur Entwicklung von mikrofluidischen Lab-on-a-Chip-Systemen ist.

6 Zusammenfassung und Ausblick

In dieser Arbeit habe ich gezeigt, dass Oberflächenwellen eine vielseitig einsetzbare Technik zur Aktuation in mikrofluidischen Kanälen sind, und mehrere konkrete Anwendungen vorgestellt.

In Kapitel 2 habe ich zunächst die physikalischen und technischen Grundlagen der Mikrofluidik und der SAW-Aktuation eingeführt. Ausgehend von den Navier-Stokes-Gleichungen habe ich gezeigt, dass in den betrachteten mikrofluidischen Systemen aufgrund der kleinen Reynoldszahl kaum Inertialeffekte und keinerlei turbulente Wirbel auftreten, und die typische Relaxationszeit, die bei $\tau = 10$ ms liegt, hergeleitet.

In Kapitel 3 wurde eine SAW-getriebene Flusskammer vorgestellt, in der kleinste Flüssigkeitsmengen (ca. 30 μ l) in einem geschlossenen Kreislauf gepumpt werden können. Ich habe die Umwandlung der elektrischen Hochfrequenzleistung in Pumpleistung sowie das resultierende Flussfeld gemessen und gezeigt, durch welche Optimierungen der Wirkungsgrad verbessert werden kann. Außerdem habe ich die Relaxationszeit des Flussfeldes bei Änderungen der Antriebsleistung gemessen. Sie liegt, abhängig von der Kanalgeometrie, im Bereich von $\tau = 15 - 60$ ms und stimmt gut mit dem theoretisch berechneten Wert überein. Derartige schnelle Schaltzeiten ermöglichen die Erzeugung gepulster Flussfelder zur Vermessung biologischer Proben. Die hervorragende Biokompatibilität des Systems habe ich durch das Pumpen einer Suspension von Roten Blutkörperchen gezeigt.

In Kapitel 4 habe ich einen mikrofluidischen Zell- und Tropfensortierer vorgestellt, der das Geschwindigkeitspotential der SAW-Aktuation voll ausschöpft. Der Sortierer detektiert die Fluoreszenz der Partikel, wertet sie in Echtzeit aus und sortiert diese vollautomatisch in zwei oder sogar drei Populationen, in einem einzigen Arbeitsschritt. Hierbei habe ich Sortierraten von bis zu 3000 s^{-1} erzielt, ohne dass Fehlsortierungen auftraten. Mit Hilfe von Flussfeldmessungen und Simulationen habe ich den Wirkungsmechanismus der SAW-Sortierung aufgeklärt. Die Vielseitigkeit des Sortierers habe ich durch die Verwendung von verschiedenen Proben gezeigt; Zellen in wässriger Lösung ließen sich ebenso sortieren wie Mikroemulsionstropfen. Dadurch lässt sich der Sortierer auch für neue Bioengineering-Verfahren einsetzen, wie beispielsweise Directed Evolution, bei der eine Aufteilung der Proben in getrennte Tropfen als Mikroreaktoren wichtig ist.

Im Kapitel 5 schließlich habe ich die SAW zur Steuerung von mikrofluidischen Tropfengeneratoren eingesetzt. Die Tropfenrate lässt sich um bis zu 300 % des Ausgangswertes erhöhen und die Tropfengröße um bis zu 63 % ver-

ringern, bei hohen Tropfenraten von 603 s^{-1} . Das Verfahren lässt sich sowohl bei Druck- als auch bei volumengetriebenen Tropfengeneratoren einsetzen, und ist mit der Geometrie herkömmlicher Tropfengeneratoren kompatibel. Außerdem habe ich gezeigt, dass sich durch eine Echtzeitsteuerung in einem Tropfengenerator abwechselnd zwei unterschiedliche Tropfenpopulationen erzeugen lassen, und die Tropfengeneration sich mit einem vorgegebenen Triggersignal synchronisieren lässt.

Optimierungsmöglichkeiten

Die in meinen Experimenten erzielten Ergebnisse können durch Optimierung des Aufbaus noch weiter verbessert werden. Im folgenden stelle ich kurz die erfolgversprechendsten Ansätze hierfür vor.

Bei jeder Art von Aktuation durch SAW-Streaming kann die Anregungsfrequenz des SAW-Transducers auf die Kanalgeometrie und die Flüssigkeit optimiert werden, sodass möglichst der gesamte Impuls der Schallwelle an die Flüssigkeit abgegeben wird. Hierfür sollte die Dämpfungslänge der Welle der Kanalhöhe entsprechen. Bei deutlich längeren Dämpfungslängen tritt die Schallwelle fast ungedämpft durch die Flüssigkeit hindurch und gibt den größten Teil ihres Impulses ans PDMS oberhalb des Mikrokanals ab, was die Aktuationseffizienz verringert. Auch eine Optimierung der Transducergeometrie selbst, beispielsweise Fokussierung, ist möglich.

Für die Optimierung des Sortierers kann man den PDMS-Kanal ohne PDMS-Folie und Stützen direkt auf das SAW-Substrat aufsetzen, wie bei den SAW-modulierten Tropfengeneratoren. Dies vermeidet Dämpfungsverluste, die beim Übertragen der SAW durch die PDMS-Stützen auftreten. Erste Versuche haben hier bereits vielversprechende Ergebnisse gezeigt. Auch eine Optimierung der Geometrie des Sortierkanals ist möglich und könnte die Sortierrate noch einmal deutlich erhöhen. Abgesehen von diesen spezifischen Optimierungsmöglichkeiten ist, ähnlich wie bei FACS-Sortierern, eine Abwägung zwischen der Rate an Fehlsortierungen und der Sortiergeschwindigkeit möglich. So lässt sich die Sortiergeschwindigkeit durch einfache Erhöhung der Flussraten verbessern, falls die damit einhergehenden Sortierfehler im spezifischen Anwendungsfall akzeptabel sind. Falls für bestimmte Anwendungen eine Sortierung in mehr als drei Populationen nötig ist, wäre auch eine Erweiterung des Dreifach-Sortierkanals auf mehr Auslässe möglich, würde aber wohl zu einer Verringerung der Sortierrate führen.

Auch bei den Tropfengeneratoren könnte eine Optimierung der Kanalgeometrie die Modulationsleistung der SAW verbessern. Bei der SAW-Mikrokanalpumpe beispielsweise habe ich die Breite der Einkopplungskanäle mit $40 \mu\text{m}$ sehr klein gewählt, um eine hohe SAW-Intensität zu erreichen, was allerdings zu einem hohen Strömungswiderstand führt. Eine Verbreiterung könnte hier Verbesserungen bringen. Auch die Geometrie der T-Junction des Tropfenge-

nerators kann verbessert werden, um einen breiteren Modulationsbereich zu erreichen.

Mögliche Anwendungen

Der erfolgsversprechendste Anwendungsbereich für den von mir entwickelten Sortierer ist die Optimierung von Proteinen durch Zufallsmutation und Selektion – Directed Evolution. Durch die hohe Sortierrate lassen sich an einem Tag bis zu 100 Millionen Mikroorganismen sortieren, was das Screening von umfangreichen Mutantenbibliotheken erlaubt.

Der SAW-modulierte Tropfengenerator eröffnet neue Möglichkeiten für tropfenbasierte Lab-on-a-Chip-Systeme. Durch die gezielte Synchronisation der Tropfenherstellung mit einem vorgegebenen Taktsignal lassen sich mehrere Tropfengeneratoren in einem Mikrokanalsystem kombinieren, beispielsweise um durch gezielte Tropfenfusion automatisiert Mischungen aus mehreren Komponenten herzustellen.

Die in dieser Arbeit vorgestellten Systeme können somit als modulare Bausteine für komplexe Lab-on-a-Chip-Systeme dienen.

A Anhang

A.1 Präparation

Hier stelle ich die Herstellung der SAW-Transducer sowie der mikrofluidischen Kanäle.

A.1.1 Herstellung der SAW-Transducer

Die SAW-Transducer werden durch photolithographisch strukturiertes Aufdampfen auf einem Lithiumniobat-Substrat der Ausrichtung 128 °rot Y-Cut hergestellt. Bei der Ausrichtung der Transducer auf dem Substrat wird darauf geachtet, dass die Ausbreitungsachse der SAW parallel zur X-Achse des Kristalls orientiert ist.

Struktur

Der Transducer besteht aus 61 Fingerpaaren mit einer Apertur von 500 μm . Der Fingerabstand variiert entlang der Apertur (Tapered IDT), wie in Abschnitt 2.2.1 dargestellt. Die Periodenlänge des IDTs beträgt minimal 23 μm auf der einen und maximal 25 μm auf der anderen Seite. Für die photolithographische Herstellung wird die CAD-Struktur auf eine gläserne Chrommaske übertragen.

Photolithographie

Auf das mit gereinigte Substrat wird mit der Positivlack S1813 von Microchem aufgebracht und mit einer Lackschleuder für 5 s bei 800 U/min verteilt und anschließend für 30 s bei 5000 U/min geschleudert, um eine Schichtdicke von 1.3 μm zu erreichen. Anschließend wird das Substrat im Ofen bei 90 °C 30 min lang getrocknet. Anschließend wird die Struktur mittels der Chrommaske belichtet, wobei darauf zu achten ist, dass die IDT-Struktur wie in Abschnitt A.1.1 beschrieben, an der Kristallachse ausgerichtet ist. Nach dem Belichten wird der belichtete Teil des Lacks im Entwicklerbad gelöst, wodurch die Strukturen sichtbar werden. Eventuell verbliebene kleinste Lackreste werden anschließend durch kurzes Plasmaätzen entfernt.

Metallisierung

Auf das Substrat wird in einem Elektronenstrahlverdampfer ein Titan-Gold-Titan-Schichtsystem aufgebracht. Die beiden 6 nm dicken Titanschichten dienen hierbei als Haftvermittler für die 90 nm dicke Goldschicht, da diese aufgrund der unterschiedlichen Gitterkonstanten nicht direkt an LiNbO_3 oder die Glasschicht bondet.

Lift-Off

Anschließend wird der Photolack im Ultraschallbad bei 30 % Leistung in Aceton gelöst, um die Metallstruktur hervortreten zu lassen. Falls nach dem Lift-off noch einige kleinere Metallkontakte zwischen den Fingern bestehen, können diese durch anlegen von 9 V Gleichspannung verdampft werden.

Beglasung

Das strukturierte Substrat wird zunächst im Sauerstoffplasma von verbliebenen Lackresten gereinigt. Durch Sputter Deposition wird anschließend eine ca. 200 nm dicke Glasschicht auf dem Substrat aufgebracht, wobei darauf zu achten ist, dass die elektrischen Kontaktflächen abgedeckt sind und nicht beschichtet werden.

A.1.2 Herstellung der Mikrokanäle

Die verwendeten Mikrokanäle werden mit Hilfe von photolithographisch strukturierten Abgussformen hergestellt und anschließend auf ein Substrat, oder im Fall von zweischichtigen Kanälen, auf eine dünne Folie aufgeklebt.

Erstellen der Photomasken

Zunächst wird mit AutoCAD die zweidimensionale Struktur der Kanäle entworfen. Der spätere Kanalbereich wird durch geschlossene Polygone dargestellt. Die Struktur wird anschließend von der Firma CAD/Art Services, Inc.¹ auf eine Polymer-Photomaske belichtet. Die maximale erreichbare Auflösung beträgt 10 μm .

Herstellung der Negativformen

Zunächst werden je nach gewünschter Dicke zwei verschiedene hochviskose Negativ-Photolacke (SU-8 10 bzw. SU-8 50)² mit einer Lackschleuder auf einen polierten Silizium-Wafer aufgebracht. Die Rotationsgeschwindigkeit ist dem Datenblatt zu entnehmen, sie beträgt je nach gewünschter Dicke zwischen 1000 und 3000 U/min. Anschließend wird die Lackschicht zunächst wenige

¹CAD/Art Services, Inc., 87509 Oberman Lane, Bandon, OR 97411, USA

²MicroChem, Newton, MA, USA

Minuten auf 65 °C und anschließend einige Minuten auf 95 °C erhitzt, um Lösungsmittel abzdampfen. Daraufhin wird die Lackschicht durch die Photomaske abgedeckt und mit UV-Licht im Wellenlängenbereich zwischen 350 und 400 nm belichtet. In den belichteten Bereichen vernetzt sich der Lack, was durch erneutes Aufheizen auf 65 und anschließend 95 °C unterstützt wird. Nachdem das nicht vernetzte SU-8 anschließend im Entwicklerbad gelöst wurde, verbleibt der gewünschte Mikrokanal als erhabene Struktur zurück.

Abformen der Mikrokanäle

Zum Abformen wird transparentes Polydimethylsiloxan (PDMS)³ verwendet, dass zunächst im Verhältnis 10:1 mit einem Linker gemischt wird und anschließend zum Austreiben von Luftblasen im Exsikkator entgast wird. Anschließend wird der Wafer mit der SU-8-Struktur in einer Petrischale mit einer 5 mm hohen PDMS-Schicht aufgegossen und für drei Stunden auf 65 °C erhitzt. Dadurch härtet das Polymer zu einer elastischen Masse aus. Die Kanäle werden vom Wafer abgelöst und die runde Löcher zur Kontaktierung der Schläuche werden in die Einlassreservoirs gestanzt.

Zusammenfügen der Mikrokanäle

Im einfachsten Fall wird der PDMS-Abguss direkt auf ein Glassubstrat gebondet. Dazu wird die Oberfläche des Glassubstrats und der PDMS-Abgusses in Sauerstoffplasma (10 s bei 200 W) aktiviert und anschließend die beiden Teile aufeinandergelegt, wodurch sich zwischen den Oberflächen irreversible kovalente Bindungen bilden. Auf die gleiche Weise lässt sich der PDMS-Abguss auf eine PDMS-Schicht bonden. Um die Verbindung zu Verbessern, wird der Mikrokanal anschließend für 45 Minuten auf 65 °C erwärmt.

Muss der PDMS-Abguss auf dem Substrat exakt ausgerichtet werden, so habe ich zwei verschiedene Techniken angewandt:

Zur Ausrichtung der Oberseite der Sortierkanäle auf die in die untere PDMS-Folie strukturierten Stützen wird nach der Plasmabehandlung ein Tropfen hochreines Ethanol zwischen die beiden Schichten aufgebracht, der ein sofortiges Bonden verhindert, sodass die Kanäle von Hand ausgerichtet werden können. Beim anschließenden Erwärmen verflüchtigt sich das Ethanol und die beiden Komponenten verbinden sich.

Zur Ausrichtung der Mikrokanäle auf dem Lithiumniobat-Substrat wird ein XYZ-Mikrometertisch verwendet, um den PDMS-Abguss zunächst in die Nähe des Substrats zu bringen, ohne dieses zu berühren. Anschließend werden die beiden Bauteile mit Hilfe der Mikrometerachsen und eines Mikroskops ausgerichtet und dann in Kontakt gebracht, wodurch sich die Bauteile sofort verbinden.

³Sylgard 184 Silicone Elastomer Kit, Dow Corning S. A., Belgien

A.2 Variablennamen

η	dynamische Viskosität
u	Flussgeschwindigkeit, Teilchengeschwindigkeit
σ	Grenzflächenspannung
Q_c	Flussrate kontinuierliche Flüssigkeit
Q_d	Flussrate dispergierte Flüssigkeit
l	Tropfenlänge
f	Tropfenrate
w	Kanalbreite
h	Kanalhöhe (z)
$\dot{\gamma}$	Scherrate
ϵ	Prop. Faktor zwischen Druck und SAW-Leistung $p = \beta P_{\text{SAW}}$
m	Proportionalitätsfaktor linearer Fit
a	Apertur IDT
q	Periodenlänge des IDT
f_{IDT}	IDT-Grundfrequenz
T	Transmissionskoeffizient
θ	Rayleighwinkel
c_{SAW}	Schallgeschwindigkeit SAW
c_{HFE}	Schallgeschwindigkeit Öl
b	Pfadbreite SAW
ζ	Dämpfungslänge SAW
ς	Dämpfungslänge Schallwelle
β	Nichtlinearitätskoeffizient
k_0	Wellenzahl einer Schallwelle
u_a	Schallschnelle
T	Periodizität Puls-Signal
τ	Pulsdauer
α	Dämpfungskoeffizient

A.3 Verwendete Materialparameter

Soweit nicht anders angegeben, beziehen sich die Angabe auf Standardbedingungen

$c_{\text{Wasser}} = 1482 \text{ m/s}$	Schallgeschwindigkeit in Wasser (20 °C)[37]
$c_{\text{Oel}} = 673 \text{ m/s}$	Schallgeschwindigkeit in HFE 7500 (20 °C)[50]
$c_{\text{SAW}} = 2898 \text{ m/s}$	SAW-Ausbreitungsgeschwindigkeit entlang der X-Achse in 128° rot Y-cut
$b = 125 \text{ }\mu\text{m}$	SAW-Schallpfad Halbwertsbreite [31]
$\varsigma = 137 \pm 1 \text{ }\mu\text{m}$	SAW-Abklinglänge in Wasser [31]
$\rho_{\text{HFE}} = 1614 \text{ kg/m}^3$	Dichte von HFE 7500 (25 °C)[2]
$\eta_{\text{HFE}} = 1 \text{ mPas}$	Viskosität von HFE 7500 (25 °C)[2]

Literaturverzeichnis

- [1] Operating Manual Signal Generator R&S SML01.
- [2] 3M ELECTRONICS MARKETS MATERIALS DIVISION. *3M Novec 7500 Engineered Fluid - Product Information*, 9 2009.
- [3] ABATE, A., SEIFFERT, S., UTADA, A., AND SHUM, A. Microfluidic techniques for synthesizing particles, 2012. Book Chapter Preprint, abgerufen am 15.03.2017 von http://weitzlab.seas.harvard.edu/publications/Bookchapter_Microfluidic_techniques.pdf.
- [4] ABATE, A. R., AGRESTI, J. J., AND WEITZ, D. A. Microfluidic sorting with high-speed single-layer membrane valves. *Applied Physics Letters* 96, 20 (2010), 203509.
- [5] ABATE, A. R., MARY, P., VAN STEIJN, V., AND WEITZ, D. A. Experimental validation of plugging during drop formation in a T-junction. *Lab on a Chip* 12, 8 (2012), 1516–1521.
- [6] ABATE, A. R., ROMANOWSKY, M. B., AGRESTI, J. J., AND WEITZ, D. A. Valve-based flow focusing for drop formation. *Applied Physics Letters* 94, 2 (2009), 023503.
- [7] ABATE, A. R., AND WEITZ, D. A. Single-layer membrane valves for elastomeric microfluidic devices. *Applied Physics Letters* 92, 24 (2008), 243509.
- [8] AGRESTI, J. J., ANTIPOV, E., ABATE, A. R., AHN, K., ROWAT, A. C., BARET, J.-C., MARQUEZ, M., KLIBANOV, A. M., GRIFFITHS, A. D., AND WEITZ, D. A. Ultrahigh-throughput screening in drop-based microfluidics for directed evolution. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 107, 9 (Mar. 2010), 4004–9.
- [9] ANNA, S. L., BONToux, N., AND STONE, H. A. Formation of dispersions using “flow focusing” in microchannels. *Applied Physics Letters* 82, 3 (2003), 364.
- [10] BARET, J.-C., BECK, Y., BILLAS-MASSOBRIO, I., MORAS, D., AND GRIFFITHS, A. D. Quantitative Cell-Based Reporter Gene Assays Using Droplet-Based Microfluidics. *Chemistry & Biology* 17, 5 (2010), 528–536.

- [11] BATCHELOR, G. K. *An Introduction to Fluid Dynamics*. Cambridge University Press, Cambridge, UK, 2000.
- [12] BRATOSIN, D., MITROFAN, L., PALII, C., ESTAQUIER, J., AND MONTREUIL, J. Novel fluorescence assay using calcein-AM for the determination of human erythrocyte viability and aging. *Cytometry. Part A : the journal of the International Society for Analytical Cytology* 66, 1 (July 2005), 78–84.
- [13] BREKHOVSKIKH, L. M. *Waves in Layered Media*, 2 ed. Academic Press, New York, USA, 1980.
- [14] CHEN, Y., NAWAZ, A. A., ZHAO, Y., HUANG, P.-H., MCCOY, J. P., LEVINE, S. J., WANG, L., AND HUANG, T. J. Standing surface acoustic wave (SSAW)-based microfluidic cytometer. *Lab on a chip* 14, 5 (2014), 916–923.
- [15] CHRISTOPHER, G. F., AND ANNA, S. L. Microfluidic methods for generating continuous droplet streams. *Journal of Physics D: Applied Physics* 40, 19 (2007), R319–R336.
- [16] COOK, B. D. New procedure for computing finite-amplitude distortion. *J Acoust Soc Am* 34, 7 (1962), 941–946.
- [17] CROWE, C. T. *Multiphase Flow Handbook*. CRC Press, 2005.
- [18] DABIRI, D. Cross-Correlation Digital Particle Image Velocimetry - A Review. 2006.
- [19] DAVIS, D. Cell Sorting by Flow Cytometry. In *Flow Cytometry Principles and Applications*, M. G. Macey, Ed., 1 ed. Humana Press Inc., Totawa, NJ, USA, 2007.
- [20] DE MENECH, M., GARSTECKI, P., JOUSSE, F., AND STONE, H. A. Transition from squeezing to dripping in a microfluidic T-shaped junction. *Journal of Fluid Mechanics* 595, 2008 (2008), 141–161.
- [21] DEAN, W. R., AND HURST, J. M. Note on the motion of fluid in a curved pipe, 1959.
- [22] DENG, J., SCHOENBACH, K. H., BUESCHER, E. S., HAIR, P. S., FOX, P. M., AND BEEBE, S. J. The effects of intense submicrosecond electrical pulses on cells. *Biophysical journal* 84, 4 (Apr. 2003), 2709–14.
- [23] DOLEŽEL, J., KUBALÁKOVÁ, M., ČÍHALÍKOVÁ, J., SUCHÁNKOVÁ, P., AND SIMKOVÁ, H. Chromosome analysis and sorting using flow cytometry. *Methods in molecular biology (Clifton, N.J.)* 701 (Jan. 2011), 221–38.

- [24] DRANSFELD, K., AND SALZMANN, E. Excitation, Detection and Attenuation of High-Frequency Elastic Surface Waves. In *Physical Acoustics, Principles and Methods, Vol. 7*, W. P. Mason and R. N. Thurston, Eds. Academic Press, 1970.
- [25] ECKART, C. Vortices and Streams Caused by Sound Waves. *Physical Review* 73, 1 (1948), 68–76.
- [26] EDD, J. F., DI CARLO, D., HUMPHRY, K. J., KÖSTER, S., IRIMIA, D., WEITZ, D. A., AND TONER, M. Controlled encapsulation of single-cells into monodisperse picolitre drops. *Lab on a Chip* 8, 8 (2008), 1262–1264.
- [27] FALLAH, M. A. *Thrombocyte and Melanoma Cell Adhesion under Various Complex Flow Conditions*. PhD thesis, Universität Augsburg, 2011.
- [28] FERGUSON, B. S., BUCHSBAUM, S. F., SWENSEN, J. S., HSIEH, K., LOU, X., AND SOH, H. T. Integrated microfluidic electrochemical DNA sensor. *Analytical Chemistry* 81, 15 (aug 2009), 6503–6508.
- [29] FRANKE, T., BRAUNMÜLLER, S., SCHMID, L., WIXFORTH, A., AND WEITZ, D. A. Surface acoustic wave actuated cell sorting (SAWACS). *Lab on a Chip* 10, 6 (2010), 789–794.
- [30] FRANKE, T. A., AND WIXFORTH, A. Microfluidics for miniaturized laboratories on a chip. *ChemPhysChem* 9, 15 (2008), 2140–2156.
- [31] FROMMELT, T. *Mischen und Sortieren mit SAW-Fluidik in Simulation und Experiment*. PhD thesis, Universität Augsburg, 2007.
- [32] FROMMELT, T., KOSTUR, M., WENZEL-SCHÄFER, M., TALKNER, P., HÄNGGI, P., AND WIXFORTH, A. Microfluidic mixing via acoustically driven chaotic advection. *Physical Review Letters* 100, 3 (2008), 034502.
- [33] GARSTECKI, P., FUERSTMAN, M. J., STONE, H. A., AND WHITESIDES, G. M. Formation of droplets and bubbles in a microfluidic T-junction-scaling and mechanism of break-up. *Lab on a Chip* 6, 3 (2006), 437–446.
- [34] GARSTECKI, P., STONE, H. A., AND WHITESIDES, G. M. Mechanism for flow-rate controlled breakup in confined geometries: a route to monodisperse emulsions. *Physical Review Letters* 94, 16 (2005), 164501.
- [35] GATTI, R., BELLETTI, S., ORLANDINI, G., BUSSOLATI, O., DALL’ASTA, V., AND GAZZOLA, G. C. Comparison of Annexin V and Calcein-AM as Early Vital Markers of Apoptosis in Adherent Cells by Confocal Laser Microscopy. *Journal of Histochemistry & Cytochemistry* 46, 8 (Aug. 1998), 895–900.

- [36] GEISLINGER, T. M., AND FRANKE, T. Hydrodynamic lift of vesicles and red blood cells in flow - From Fåhræus & Lindqvist to microfluidic cell sorting. *Advances in Colloid and Interface Science* 208 (2014), 161–176.
- [37] GROSSO, V. A. D. Speed of sound in pure water. *The Journal of the Acoustical Society of America* 52, 5B (1972), 1442.
- [38] GUASCH, R. M., GUERRI, C., AND O’CONNOR, J. E. Flow cytometric analysis of concanavalin A binding to isolated Golgi fractions from rat liver. *Experimental cell research* 207, 1 (July 1993), 136–41.
- [39] GUBBINS, D. *Seismology and Plate Tectonics*. 1990.
- [40] GUO, M. T., ROTEM, A., HEYMAN, J. A., AND WEITZ, D. A. Droplet microfluidics for high-throughput biological assays. *Lab on a Chip* 12, 12 (2012), 2146.
- [41] GUTTENBERG, Z., MULLER, H., HABERMÜLLER, H., GEISBAUER, A., PIPPER, J., FELBEL, J., KIELPINSKI, M., SCRIBA, J., AND WIXFORTH, A. Planar chip device for PCR and hybridization with surface acoustic wave pump. *Lab on a Chip* 5, 3 (2005), 308–317.
- [42] HAGEN, R., BEHRENDTS, R., AND KAATZE, U. Acoustical properties of aqueous solutions of urea: Reference data for the ultrasonic spectrometry of liquids. *Journal of Chemical & Engineering Data* 49, 4 (July 2004), 988–991.
- [43] HASHIMOTO, K.-Y. *Surface Acoustic Wave Devices in Telecommunications: Modelling and Simulation*. Springer Berlin / Heidelberg, Berlin, 2000.
- [44] HOLTZE, C., ROWAT, A. C., AGRESTI, J. J., HUTCHISON, J. B., ANGILE, F. E., SCHMITZ, C. H. J., KOSTER, S., DUAN, H., HUMPHRY, K. J., SCANGA, R. A., JOHNSON, J. S., PISIGNANO, D., AND WEITZ, D. A. Biocompatible surfactants for water-in-fluorocarbon emulsions. *Lab on a Chip* 8, 10 (2008), 1632–1639.
- [45] IVERSON, G. M., BIANCHI, D. W., CANN, H. M., AND HERZENBERG, L. A. Detection and isolation of fetal cells from maternal blood using the fluorescence-activated cell sorter (FACS). *Prenatal diagnosis* 1, 1 (Jan. 1981), 61–73.
- [46] KARNIS, A., GOLDSMITH, H. L., AND MASON, S. G. Axial Migration of Particles in Poiseuille Flow, 1963.
- [47] KEMNA, E. W. M., SCHOEMAN, R. M., WOLBERS, F., VERMES, I., WEITZ, D. A., AND VAN DEN BERG, A. High-yield cell ordering and

- deterministic cell-in-droplet encapsulation using Dean flow in a curved microchannel. *Lab on a Chip* 12, 16 (2012), 2881.
- [48] KOPERNIKUS, N. *Über die Kreisbewegungen der Weltkörper*. Copernicus-Verein für Wissenschaft und Kunst zu Thorn, Thorn, 1879.
 - [49] KÖSTER, S., ANGILÈ, F. E., DUAN, H., AGRESTI, J. J., WINTNER, A., SCHMITZ, C., ROWAT, A. C., MERTEN, C. A., PISIGNANO, D., GRIFFITHS, A. D., AND WEITZ, D. A. Drop-based microfluidic devices for encapsulation of single cells. *Lab on a chip* 8, 7 (July 2008), 1110–5.
 - [50] LAFITTE, T., AND PLANTIER, F. thermophysical characterization of hydrofluoroethers through a statistical associating fluid theory variable range approach, based on new experimental high-pressure. *Ind. Eng. Chem. Res.* 46 (2007), 6998–7007.
 - [51] LANDAU, L. D., AND LIFSHITZ, E. M. *Fluid Mechanics, Second Edition (Volume 6 of Course of Theoretical Physics)*, 2 ed., vol. 6 of *Course of Theoretical Physics*. Pergamon Press, 1987.
 - [52] LANDENBERGER, B., HÖFEMANN, H., WADLE, S., AND ROHRBACH, A. Microfluidic sorting of arbitrary cells with dynamic optical tweezers. *Lab on a chip* 12, 17 (Sept. 2012), 3177–83.
 - [53] LASER, D. J., AND SANTIAGO, J. G. A review of micropumps, 2004.
 - [54] LEE, C.-Y., CHANG, C.-L., WANG, Y.-N., AND FU, L.-M. Microfluidic mixing: a review. *International journal of molecular sciences* 12, 5 (2011), 3263–3287.
 - [55] LIGHTHILL, J. Acoustic streaming. *Journal of Sound and Vibration* 61, 3 (1978), 391–418.
 - [56] LIU, J., TAN, S.-H., YAP, Y. F., NG, M. Y., AND NGUYEN, N.-T. Numerical and experimental investigations of the formation process of ferrofluid droplets. *Microfluidics and Nanofluidics* 11, 2 (Mar. 2011), 177–187.
 - [57] MANZ, A., MIYAHARA, Y., MIURA, J., WATANABE, Y., MIYAGI, H., AND SATO, K. Design of an open-tubular column liquid chromatograph using silicon chip technology. *Sensors and Actuators B: Chemical* 1, 1-6 (Jan. 1990), 249–255.
 - [58] MAO, X., NAWAZ, A. A., LIN, S.-C. S., LAPSLEY, M. I., ZHAO, Y., MCCOY, J. P., EL-DEIRY, W. S., AND HUANG, T. J. An integrated, multiparametric flow cytometry chip using "microfluidic drifting"based three-dimensional hydrodynamic focusing. *Biomicrofluidics* 6, 2 (June 2012), 24113–241139.

- [59] MASSIN, C., VINCENT, F., HOMSY, A., EHLMANN, K., BOERO, G., BESSE, P.-A., DARIDON, A., VERPOORTE, E., DE ROOIJ, N., AND POPOVIC, R. Planar microcoil-based microfluidic NMR probes. *Journal of Magnetic Resonance* 164, 2 (oct 2003), 242–255.
- [60] MENG, L., CAI, F., ZHANG, Z., NIU, L., JIN, Q., YAN, F., WU, J., WANG, Z., AND ZHENG, H. Transportation of single cell and microbubbles by phase-shift introduced to standing leaky surface acoustic waves. *Biomicrofluidics* 5, 4 (2011), 044104.
- [61] MENON, L. G., KUTTAN, R., AND KUTTAN, G. Inhibition of lung metastasis in mice induced by B16F10 melanoma cells by polyphenolic compounds. *Cancer Letters* 95, 1-2 (Aug. 1995), 221–225.
- [62] MILTENYI, S., MÜLLER, W., WEICHEL, W., AND RADBRUCH, A. High gradient magnetic cell separation with MACS. *Cytometry* 11, 2 (Jan. 1990), 231–8.
- [63] MORGAN, D. *Surface Acoustic Wave Filters With Applications to Electronic Communications and Signal Processing*, 2 ed. Academic Press, Oxford, UK, 2007.
- [64] NAM, J., LIM, H., KIM, C., KANG, J. Y., AND SHIN, S. Density-dependent separation of encapsulated cells in a microfluidic channel by using a standing surface acoustic wave. *Biomicrofluidics* 6, 2 (2012), 024120.
- [65] NAM, J., LIM, H., KIM, D., AND SHIN, S. Separation of platelets from whole blood using standing surface acoustic waves in a microchannel. *Lab on a Chip* 11, 19 (2011), 3361.
- [66] NGUYEN, N.-T., TING, T.-H., YAP, Y.-F., WONG, T.-N., CHAI, J. C.-K., ONG, W.-L., ZHOU, J., TAN, S.-H., AND YOBAS, L. Thermally mediated droplet formation in microchannels. *Applied Physics Letters* 91, 8 (Aug. 2007), 084102.
- [67] NORTHRUP, A. M., CHING, M. T., WHITE, R. M., AND WATSON, R. T. DNA amplification with a microfabricated reaction chamber. In *Transducers 1993* (Chicago, USA, 1993), pp. 924–926.
- [68] O’CONNELL-RODWELL, C. E., ARNASON, B. T., AND HART, L. A. Seismic properties of Asian elephant (*Elephas maximus*) vocalizations and locomotion. *The Journal of the Acoustical Society of America* 108, 6 (Dec. 2000), 3066–72.
- [69] PRUITT, S. C., MIELNICKI, L. M., AND STEWART, C. C. Analysis of fluorescent protein expressing cells by flow cytometry. *Methods in molecular biology (Clifton, N.J.)* 263 (Jan. 2004), 239–58.

- [70] RAMBACH, R. W., TAIBER, J., SCHECK, C. M. L., MEYER, C., REBOUD, J., COOPER, J. M., AND FRANKE, T. Visualization of surface acoustic waves in thin liquid films. *Sci. Rep.* 6 (feb 2016), 21980.
- [71] RAYLEIGH, J. W. S. On the Circulation of Air Observed in Kundt's Tubes, and on Some Allied Acoustical Problems. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London* 175, January (Jan. 1884), 1–21.
- [72] RAYLEIGH, J. W. S. On Waves Propagated along the Plane Surface of an Elastic Solid. *Proc. London Math. Soc.* 17, 1 (1885), 4–11.
- [73] RENAUDIN, A., TABOURIER, P., ZHANG, V., CAMART, J. C., AND DRUON, C. SAW nanopump for handling droplets in view of biological applications. *Sensors and Actuators, B: Chemical* 113, 1 (2006), 389–397.
- [74] REYES, D. R., IOSSIFIDIS, D., AUROUX, P. A., AND MANZ, A. Micro total analysis systems. 1. Introduction, theory, and technology. *Analytical Chemistry* 74 (2002), 2623–2636 ST – Micro total analysis systems. 1. I.
- [75] ROSSING, T. D. *Springer Handbook of Acoustics*. Springer, 2007.
- [76] SACKMANN, E. K., FULTON, A. L., AND BEEBE, D. J. The present and future role of microfluidics in biomedical research. *Nature* 507, 7491 (Mar 2014), 181–189. Review.
- [77] SCHMID, L., AND FRANKE, T. SAW-controlled drop size for flow focusing. *Lab on a Chip* 13, 9 (2013), 1691.
- [78] SCHMID, L., AND FRANKE, T. Acoustic modulation of droplet size in a t-junction. *Applied Physics Letters* 104, 13 (mar 2014), 133501.
- [79] SCHMID, L., AND FRANKE, T. Real-time size modulation and synchronization of a microfluidic dropmaker with pulsed saw. submitted to Scientific Reports, 2017.
- [80] SCHMID, L., WEITZ, D. A., AND FRANKE, T. Sorting drops and cells with acoustics: Acoustic microfluidic fluorescent activated cell sorter. *Lab on a Chip* (June 2014).
- [81] SCHMID, L., WIXFORTH, A., WEITZ, D., AND FRANKE, T. Novel surface acoustic wave (saw)-driven closed pdms flow chamber. *Microfluidics and Nanofluidics* 12, 1-4 (2012), 229–235.
- [82] SCHNEIDER, M. F., GUTTENBERG, Z., SCHNEIDER, S. W., SRITHARAN, K., MYLES, V. M., PAMUKCI, U., AND WIXFORTH, A. An acoustically driven microliter flow chamber on a chip (muFCC) for cell-cell

- and cell-surface interaction studies. *Chemphyschem : a European journal of chemical physics and physical chemistry* 9, 4 (2008), 641–645.
- [83] SEEMANN, R., BRINKMANN, M., PFOHL, T., AND HERMINGHAUS, S. Droplet based microfluidics. *Reports on Progress in Physics* 75, 1 (2012), 016601.
- [84] SEYMOUR, L. W., ULBRICH, K., STEYGER, P. S., BRERETON, M., SUBR, V., STROHALM, J., AND DUNCAN, R. Tumour tropism and anti-cancer efficacy of polymer-based doxorubicin prodrugs in the treatment of subcutaneous murine B16F10 melanoma. *British journal of cancer* 70, 4 (Oct. 1994), 636–41.
- [85] SHAH, R., SHUM, H., ROWAT, A., LEE, D., AGRESTI, J., UTADA, A., CHU, L., KIM, J., FERNANDEZNIEVES, A., AND MARTINEZ, C. Designer emulsions using microfluidics. *Materials Today* 11, 4 (2008), 18–27.
- [86] SHAPIRO, H. M. *Practical Flow Cytometry*, vol. 4. Wiley-Liss, 2003.
- [87] SHIM, J.-U., OLGUIN, L. F., WHYTE, G., SCOTT, D., BAPTIE, A., ABELL, C., HUCK, W. T. S., AND HOLLFELDER, F. Simultaneous determination of gene expression and enzymatic activity in individual bacterial cells in microdroplet compartments. *J. Am. Chem. Soc.* 131, 42 (Oct. 2009), 15251–6.
- [88] SKOWRONEK, V., RAMBACH, R. W., AND FRANKE, T. Surface acoustic wave controlled integrated band-pass filter. *Microfluidics and Nanofluidics* 19, 2 (feb 2015), 335–341.
- [89] SKOWRONEK, V., RAMBACH, R. W., SCHMID, L., HAASE, K., AND FRANKE, T. Particle deflection in a poly(dimethylsiloxane) microchannel using a propagating surface acoustic wave: Size and frequency dependence. *Analytical Chemistry* 85, 20 (oct 2013), 9955–9959.
- [90] SLOBODNIK, A. J., CONWAY, E. D., AND DELMONICO, R. T. *Microwave Acoustics Handbook: Volume 2. Surface Wave Velocities : Numerical Data*. 1974.
- [91] SQUIRES, T., AND QUAKE, S. Microfluidics: Fluid physics at the nanoliter scale, 2005.
- [92] SRITHARAN, K., STROBL, C. J., SCHNEIDER, M. F., WIXFORTH, A., AND GUTTENBERG, Z. Acoustic mixing at low Reynold’s numbers. *Applied Physics Letters* 88, 5 (2006), 054102.
- [93] STAN, C. A., TANG, S. K. Y., AND WHITESIDES, G. M. Independent control of drop size and velocity in microfluidic flow-focusing generators

- using variable temperature and flow rate. *Analytical chemistry* 81, 6 (Mar. 2009), 2399–402.
- [94] STONE, H. A., STROOCK, A. D., AND AJDARI, A. Engineering Flows in Small Devices: Microfluidics Toward a Lab-on-a-Chip. *Annual Review of Fluid Mechanics* 36, 1 (2004), 381–411.
 - [95] TABELING, P. *Introduction to Microfluidics*, 1 ed. Oxford University Press, Oxford, 2005.
 - [96] TAN, S. H., AND NGUYEN, N.-T. Generation and manipulation of monodispersed ferrofluid emulsions: the effect of a uniform magnetic field in flow-focusing and T-junction configurations. *Physical review. E, Statistical, nonlinear, and soft matter physics* 84, 3 Pt 2 (Sept. 2011), 036317.
 - [97] TAYLOR, G. I. The Formation of Emulsions in Definable Fields of Flow. *Proceedings of the Royal Society A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences* 146, 858 (Oct. 1934), 501–523.
 - [98] TEISSIÉ, J., ESCOFFRE, J., ROLS, M., AND GOLZIO, M. Time dependence of electric field effects on cell membranes. A review for a critical selection of pulse duration for therapeutical applications. *Radiology and Oncology* 42, 4 (Jan. 2008), 196–206.
 - [99] THORSEN, T., ROBERTS, R. W., ARNOLD, F. H., AND QUAKE, S. R. Dynamic pattern formation in a vesicle-generating microfluidic device. *Physical Review Letters* 86, 18 (2001), 4163–4166.
 - [100] UNGER, M. A. Monolithic Microfabricated Valves and Pumps by Multilayer Soft Lithography. *Science* 288, 5463 (Apr. 2000), 113–116.
 - [101] VALENTE, P., FASSINA, G., MELCHIORI, A., MASIELLO, L., CILLI, M., VACCA, A., ONISTO, M., SANTI, L., STETLER-STEVENSON, W. G., AND ALBINI, A. TIMP-2 over-expression reduces invasion and angiogenesis and protects B16F10 melanoma cells from apoptosis. *International journal of cancer. Journal international du cancer* 75, 2 (Jan. 1998), 246–53.
 - [102] WHITESIDES, G. M. The origins and the future of microfluidics. *Nature* 442, 7101 (Jul 2006), 368–373.
 - [103] WILLAIME, H., BARBIER, V., KLOUL, L., MAINE, S., AND TABELING, P. Arnold tongues in a microfluidic drop emitter. *Physical Review Letters* 96, 5 (2006), 054501.

- [104] WOOD, C. D., CUNNINGHAM, J. E., O’RORKE, R., WÄLTI, C., LINFIELD, E. H., DAVIES, A. G., AND EVANS, S. D. Formation and manipulation of two-dimensional arrays of micron-scale particles in microfluidic systems by surface acoustic waves. *Appl. Phys. Lett.* 94, 5 (2009), 054101.
- [105] WOOD, C. D., EVANS, S. D., CUNNINGHAM, J. E., O’RORKE, R., WÄLTI, C., AND DAVIES, A. G. Alignment of particles in microfluidic systems using standing surface acoustic waves. *Applied Physics Letters* 92, 4 (2008), 044104.
- [106] WU, J., CAO, W., WEN, W., CHANG, D. C., AND SHENG, P. Polydimethylsiloxane microfluidic chip with integrated microheater and thermal sensor. *Biomicrofluidics* 3, 1 (2009), 012005.
- [107] WU, J., AND GU, M. Microfluidic sensing: state of the art fabrication and detection techniques. *Journal of Biomedical Optics* 16, 8 (2011), 080901–080901–12.
- [108] XU, S., NIE, Z., SEO, M., LEWIS, P., KUMACHEVA, E., STONE, H. A., GARSTECKI, P., WEIBEL, D. B., GITLIN, I., AND WHITESIDES, G. M. Generation of monodisperse particles by using microfluidics: control over size, shape, and composition. *Angewandte Chemie (International ed. in English)* 44, 5 (Jan. 2005), 724–8.
- [109] YEO, L. Y., AND FRIEND, J. R. Surface acoustic wave microfluidics. *Annu. Rev. Fluid Mech.* 46, 1 (jan 2014), 379–406.

Danksagung

Für die Betreuung dieser Arbeit, die intensiven fachlichen Diskussionen und die Unterstützung möchte ich Prof. Dr. Thomas Franke danken. Ebenso möchte ich Prof. Dr. Achim Wixforth danken, dass er mich an seinem Lehrstuhl aufgenommen hat und auch für viele Anregungen und interessante Diskussionen. Ebenfalls bedanken möchte ich mich bei Prof. Dr. Malte Peter, der die Erstellung des Zweitgutachtens übernommen hat. Bei Prof. Dr. David A. Weitz möchte ich mich für die mehrmalige Einladung an seinen Lehrstuhl bedanken und für die Expertise zu Mikroemulsionen und Sortierern, die ich mit nach Hause nehmen konnte.

Weiterhin möchte ich mich bei meinen Kollegen und Kommilitonen aus der Arbeitsgruppe Mikrofluidik bedanken, insbesondere Susanne Schmid (geb. Braummüller), Benjamin Eggart, Thomas Geislinger, Richard Rambach, und Viktor Skowronek für die vielen gemeinsamen Experimente, Diskussionen und Gespräche. Ebenso bedanken möchte ich mich bei allen anderen Mitgliedern des Lehrstuhls, für die Hilfe, die gemeinsamen Unternehmungen, die legendären Parties und das hervorragende Arbeitsklima. Ein besonderer Dank auch für die Unterstützung durch Funda Cevik, Alexander Hupfer, Sidonie Lieber, Andreas Spörhase und das Technik-Team.

Bei der *Nanosystems Initiative Munich* (NIM) möchte ich mich für die Förderung bedanken.

Ein besonderes Prosit meinen Band-Kollegen von der Freibierlätschn, für die gemeinsame Begeisterung für laute Musik und kühles Bier.

Schließlich möchte ich mich bei all denen Bedanken, die mich außerhalb der Uni während meiner Promotionszeit unterstützt haben, durch ihr offenes Ohr, ihren guten Rat, und gute Gespräche. Das sind meine Eltern, die mir immer wieder Halt und Zuversicht gegeben haben und die immer an mich geglaubt haben, meine Freunde Cyril Stephanos und Oliver Heckl, die mich seit dem Beginn meines Studiums begleitet haben. Und ganz besonders möchte ich mich bei Marián bedanken, die mich ermutigt hat, diese Arbeit abzuschließen, für ihren Rückhalt und ihre Unterstützung.